

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0148169

(43) 공개일자 2023년10월24일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/54 (2006.01)

C07K 14/55 (2006.01) C07K 14/715 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2827 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2023-7028520

(22) 출원일자(국제) 2022년01월21일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2023년08월22일

(86) 국제출원번호 PCT/US2022/013417

(87) 국제공개번호 WO 2022/159771

국제공개일자 2022년07월28일

(30) 우선권주장

63/140,749 2021년01월22일 미국(US)

(71) 출원인

엘피스 바이오파마슈티컬즈

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

(72) 발명자

자오, 케하오

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

첸, 안

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

이내영, 류중우

전체 청구항 수 : 총 93 항

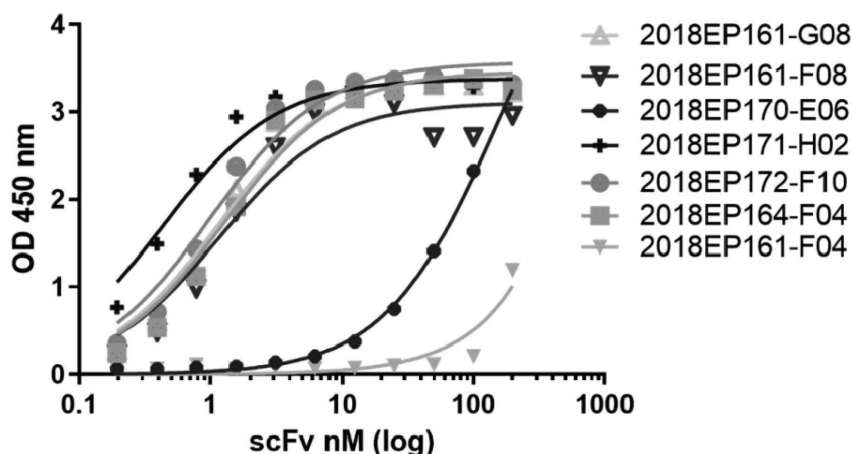
(54) 발명의 명칭 항-PD-L1 모노클로날 항체 및 인터루킨-15 (IL-15), 인터루킨-15 수용체 15 알파 또는 인터루킨-2와의 융합 단백질

(57) 요약

본 개시내용은 쌍형성되어 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항원-결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 단백질을 제공한다. 특정 실시양태에서, 단백질 또는 항원-결합 부위는 항체 또는 이중특이적 항체, 예컨대, 예를 들어, PD-L1/IL-2R β 이중특이적 항체를 형성한다. 또한 암 치료용을 포함하여, 이러한 단백질을 포함하는 약학 조성물, 이러한 단백질을 사용하는 치료적 방법, 및 이의 약학 조성물을 제공한다.

대표도 - 도1

PDL1 scFvs 적정



(52) CPC특허분류

C07K 14/5443 (2013.01)

C07K 14/55 (2013.01)

C07K 14/7155 (2013.01)

C07K 2317/55 (2013.01)

C07K 2317/565 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/76 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2319/75 (2013.01)

(72) 발명자

하쎄, 사뮈엘 크레멘트

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

응우옌, 제나

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

지양, 님

미국, 매사추세츠 02421, 렉싱턴, 빌딩 비, 스프링 스트리트 128

명세서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위:

서열번호 11, 3, 19, 33, 52 또는 63의 상보성-결정 영역 1 (CDR1) 서열; 서열번호 12, 4, 20, 34, 41, 53 또는 64의 상보성-결정 영역 2 (CDR2) 서열; 및 서열번호 89, 5, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83 또는 86의 상보성-결정 영역 3 (CDR3) 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH); 및

서열번호 47, 6, 14, 22, 28, 36, 55 또는 66의 CDR1 서열; 서열번호 48, 7, 15, 23, 29, 37, 42, 56, 60 또는 67의 CDR2 서열; 및 서열번호 49, 8, 16, 24, 30, 38, 43, 57 또는 68의 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL).

청구항 2

제1항에 있어서, 다음을 포함하는, 항원-결합 부위:

(a) 각각 서열번호 11, 12 및 89의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL

(b) 각각 서열번호 3, 4 및 5의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 6, 7 및 8의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(c) 각각 서열번호 11, 12 및 13의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 14, 15 및 16의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(d) 각각 서열번호 19, 20 및 21의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 22, 23 및 24의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(e) 각각 서열번호 19, 20 및 27의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 28, 29 및 30의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(f) 각각 서열번호 33, 34 및 35의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 36, 37 및 38의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(g) 각각 서열번호 3, 41 및 5의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 6, 42 및 43의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(h) 각각 서열번호 11, 12 및 46의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(i) 각각 서열번호 52, 53 및 54의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 55, 56 및 57의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(j) 각각 서열번호 11, 12 및 46의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 60 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(k) 각각 서열번호 63, 64 및 65의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 66, 67 및 68의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(l) 각각 서열번호 11, 12 및 71의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(m) 각각 서열번호 11, 12 및 74의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(n) 각각 서열번호 11, 12 및 77의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의

CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(o) 각각 서열번호 11, 12 및 80의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL;

(p) 각각 서열번호 11, 12 및 83의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL; 또는

(q) 각각 서열번호 11, 12 및 86의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VH; 및 각각 서열번호 47, 48 및 49의 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 VL.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

(a) 상기 VH가 서열번호 87과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 88과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(b) 상기 VH가 서열번호 1과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 2와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(c) 상기 VH가 서열번호 9와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 10과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(d) 상기 VH가 서열번호 17과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 18과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(e) 상기 VH가 서열번호 25와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 26과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(f) 상기 VH가 서열번호 31과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 32와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(g) 상기 VH가 서열번호 39와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 40과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(h) 상기 VH가 서열번호 44와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 45와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(i) 상기 VH가 서열번호 50과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 51과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(j) 상기 VH가 서열번호 58과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 59와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(k) 상기 VH가 서열번호 61과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 62와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(l) 상기 VH가 서열번호 69와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 70과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(m) 상기 VH가 서열번호 72와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 73과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(n) 상기 VH가 서열번호 75와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 76과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(o) 상기 VH가 서열번호 78과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 79와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(p) 상기 VH가 서열번호 81과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 82와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(q) 상기 VH가 서열번호 84와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL이 서열번호 85와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 항원-결합 부위.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

- (a) 상기 VH가 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나
- (b) 상기 VH가 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (c) 상기 VH가 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (d) 상기 VH가 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (e) 상기 VH가 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하거나;
- (f) 상기 VH가 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (g) 상기 VH가 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (h) 상기 VH가 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (i) 상기 VH가 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 51의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (j) 상기 VH가 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (k) 상기 VH가 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (l) 상기 VH가 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (m) 상기 VH가 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (n) 상기 VH가 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (o) 상기 VH가 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (p) 상기 VH가 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;
- (q) 상기 VH가 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL이 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는, 항원-결합 부위.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 단일-쇄 단편 가변 단편 (scFv)인, 항원-결합 부위.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 항원-결합 단편 (Fab)인, 항원-결합 부위.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정된 바와 같이, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 0.8 nM 미만, 약 0.6 nM 미만, 약 0.4 nM 미만, 약 0.2 nM 미만, 또는 약 0.1 nM 미만의 K_D 로 인간 PD-L1에 결합하는, 항원-결합 부위.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 측정된 바와 같이, 약 160 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 1.5 nM 미만, 약 1.2 nM 미만, 약 1.0 nM 미만, 약 0.8 nM 미만, 약 0.7 nM 미만, 약 0.6 nM 미만, 약 0.5 nM 미만, 또는 약 0.4 nM 미만의 EC_{50} 으로 인간 PD-L1에 결합하는, 항원-결합 부위.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 형광-활성화된 세포 분류 (FACS)에 의해 측정된 바와 같이, 약 40 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 8 nM 미만, 약 6 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 0.5 nM 미만, 약 0.3 nM 미만, 약 0.2 nM 미만, 약 0.1 nM 미만의 EC_{50} 으로 인간 PD-L1을 발현하는 세포에 결합하는, 항원-결합 부위.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원-결합 부위가 PD-L1에 결합하기 위해 PD-1과 경쟁하거나, PD-1에 대한 PD-L1 결합을 억제하는, 항원-결합 부위.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 항원-결합 부위를 포함하는, 단백질.

청구항 12

제11항에 있어서, 하나 이상의 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 단백질.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 인간 IgG 중쇄 불변 영역인, 단백질.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 인간 IgG1 중쇄 불변 영역인, 단백질.

청구항 15

제12항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 단백질.

청구항 16

제12항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, L234A, L235A, P329G, Y349C, S354C, T366S, T366W, L368A, F405K, K409A 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는, 단백질.

청구항 17

제12항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 91 또는 서열번호 92의 아

미노산 서열을 포함하는, 단백질.

청구항 18

제12항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, S354C, T366W 및 K409A로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제1 항체 중쇄 불변 영역, 및 서열번호 90에 비해, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 단백질.

청구항 19

제11항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 단백질이 항체인, 단백질.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 항체가 다음을 포함하는, 단백질:

- (a) 서열번호 148과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 (HC) 및 서열번호 149와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 (LC);
- (b) 서열번호 150과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 서열번호 151과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- (c) 서열번호 152와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 서열번호 153과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- (d) 서열번호 154와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 서열번호 155와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC;
- (e) 서열번호 156과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 서열번호 157과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC; 또는
- (f) 서열번호 159와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 HC 및 서열번호 160과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC.

청구항 21

제19항 또는 제20항에 있어서, 상기 항체가 다음을 포함하는, 단백질:

- (a) 서열번호 148의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC;
- (b) 서열번호 150의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 151의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC;
- (c) 서열번호 152의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 153의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC;
- (d) 서열번호 154의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 155의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC;
- (e) 서열번호 156의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 157의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; 또는
- (f) 서열번호 159의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC.

청구항 22

제19항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 SPR에 의해 측정된 바와 같이, 약 10 nM 미만, 약 6 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 1 nM 미만, 또는 약 0.4 nM 미만의 K_D 로 인간 PD-L1에 결합하는, 단백질.

청구항 23

제19항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 약 0.2 nM 미만의 EC_{50} 으로 인간 PD-L1에 결합하는, 단백질.

청구항 24

제19항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 FACS에 의해 측정된 바와 같이, 약 7 nM 미만의 EC_{50} 으로 인간 PD-L1을 발현하는 세포에 결합하는, 단백질.

청구항 25

제19항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 생체내에서 종양 성장을 억제하는, 단백질.

청구항 26

제19항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 아테졸리주맙과 비교하여 비슷한 또는 보다 향상된 수준으로 생체내에서 $IFN\gamma$ 및 $TNF\alpha$ 분비를 유도하는, 단백질.

청구항 27

다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) 다음을 포함하는, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위:

(i) 서열번호 11, 3, 19, 33, 52 또는 63의 상보성-결정 영역 1 (CDR1); 서열번호 12, 4, 20, 34, 41, 53 또는 64의 상보성-결정 영역 2 (CDR2); 및 서열번호 89, 5, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83 또는 86의 상보성-결정 영역 3 (CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH); 및

(ii) 서열번호 47, 6, 14, 22, 28, 36, 55 또는 66의 CDR1 서열; 서열번호 48, 7, 15, 23, 29, 37, 42, 56, 60 또는 67의 CDR2 서열; 및 서열번호 49, 8, 16, 24, 30, 38, 43, 57 또는 68의 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL); 및

(b) 인터루킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터루킨-15 수용체 알파 (IL-15R α) 폴리펩티드, 야생형 인터루킨-2 (IL-2) 폴리펩티드 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체.

청구항 28

제27항에 있어서, 하나 이상의 항체 중쇄 불변 영역을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 29

제27항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위가 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) VH가 서열번호 87과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 88과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(b) VH가 서열번호 1과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 2와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(c) VH가 서열번호 9와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 10과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(d) VH가 서열번호 17과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 18과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(e) VH가 서열번호 25와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 26과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(f) VH가 서열번호 31과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 32와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

노산 서열을 포함하거나;

(g) VH가 서열번호 39와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 40과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(h) VH가 서열번호 44와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 45와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(i) VH가 서열번호 50과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 51과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(j) VH가 서열번호 58과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 59와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(k) VH가 서열번호 61과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 62와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(l) VH가 서열번호 69와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 70과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(m) VH가 서열번호 72와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 73과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(n) VH가 서열번호 75와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 76과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(o) VH가 서열번호 78과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 79와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;

(p) VH가 서열번호 81과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 82와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(q) VH가 서열번호 84와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고 VL이 서열번호 85와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함함.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위가 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) VH가 서열번호 87의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 88의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나

(b) VH가 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(c) VH가 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(d) VH가 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(e) VH가 서열번호 25의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 26의 아미노산 서열을 포함하거나;

(f) VH가 서열번호 31의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 32의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(g) VH가 서열번호 39의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 40의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(h) VH가 서열번호 44의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 45의 아미노산 서열을 포

함하거나 이로 이루어지거나;

(i) VH가 서열번호 50의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 51의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(j) VH가 서열번호 58의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 59의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(k) VH가 서열번호 61의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 62의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(l) VH가 서열번호 69의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 70의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(m) VH가 서열번호 72의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 73의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(n) VH가 서열번호 75의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 76의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(o) VH가 서열번호 78의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 79의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나;

(p) VH가 서열번호 81의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 82의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지거나; 또는

(q) VH가 서열번호 84의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고 VL이 서열번호 85의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어짐.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 인터루킨-15 (IL-15) 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체, 및 제1 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 서브유닛; 및

(b) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 인터루킨-15 수용체 알파 (IL-15R α) 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체, 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 서브유닛.

청구항 32

제27항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-15 폴리펩티드가 서열번호 93의 아미노산 50-162, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 33

제27항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 IL-15R α 폴리펩티드가 서열번호 94의 아미노산 31-97, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 34

제27항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 186과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 187과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하며; 임의로 제1 서브유닛이 서열번호 181과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 35

제34항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 186의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 187의 아미노산 서열을 포함하며; 임의로 제1 서브유닛이 서열번호 181의 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 36

제27항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 188과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 189와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 제2 서브유닛이 서열번호 189의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지는, 이기능적 단백질.

청구항 38

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 조작된 IL-2 폴리펩티드가 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) 야생형 IL-2에 비해,

K35G, K35L, K35S, K35V, K35D, K35E 및 K35C로부터 선택된 위치 K35에서의 돌연변이;

R38V, R38D, R38E, R38S, R38I, R38A, R38Y, R38G, R38C 및 R38N으로부터 선택된 위치 R38에서의 돌연변이;

F42A, F42R, F42G, F42I, F42L, F42P 및 F42H로부터 선택된 위치 F42에서의 돌연변이; 및

Y45S, Y45P, Y45A, Y45V, Y45C, Y45T 및 Y45F로부터 선택된 위치 Y45에서의 돌연변이

로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 IL-2 수용체 α (IL-2R α) 결합 영역 1, 및/또는

(b) $X_1-X_2-X_3-D-X_4-X_5-X_6-N-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}$ (서열번호 95)

를 포함하는 IL-2 수용체 β (IL-2R β) 결합 영역 2 모티프:

여기서

X_1 이 C, T, G, W, I, S, E 및 K로부터 선택되고;

X_2 가 Y, P, V, W, L, A 및 G로부터 선택되고;

X_3 가 S, T, Q, G, M, E, R 및 K로부터 선택되고;

X_4 가 A, V, S 및 T로부터 선택되고;

X_5 가 I, L, T 및 V로부터 선택되고;

X_6 가 S, T, E, D 및 R로부터 선택되고;

X_7 이 I, A, M 및 V로부터 선택되고;

X_8 가 S, T, N, Q, I, G, E, K 및 R로부터 선택되고;

X_9 이 V, L 및 I로부터 선택되고;

X_{10} 이 N, T, I 및 L로부터 선택되고;

X_{11} 이 V, A 및 I로부터 선택되고;

X_{12} 가 Q, L, G, K 및 R로부터 선택되고;

X_{13} 이 A, D 및 E로부터 선택됨.

청구항 39

제38항에 있어서, 상기 조작된 IL-2 폴리펩티드가 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) 서열번호 124-147로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-2R α 결합 영역 1; 및/또는

(b) 서열번호 96-123으로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-2R β 결합 영역 2 모티프.

청구항 40

제38항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) 상기 IL-2R α 결합 영역 1이 서열번호 124-147로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고/하거나;

(b) 상기 IL-2R β 결합 영역 2 모티프가 서열번호 96-123으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 41

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 160-164로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 42

제41항에 있어서, 서열번호 160-164로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 43

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

(a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위 및 제1 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 제1 서브유닛; 및

(b) 야생형 인터루킨-2 (IL-2) 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 제2 서브유닛.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 176과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 45

제43항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 46

제43항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 177-180으로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 임의로 제1 서브유닛이 서열번호 181과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 177-180으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며, 임의로 제1 서브유닛이 서열번호 181의 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 48

제46항 또는 제47항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 177 및 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 171의 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 49

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 다음을 포함하는, 이기능적 단백질:

- (a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위 및 제1 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 제1 서브유닛; 및
- (b) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 야생형 인터루킨-2 (IL-2) 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체, 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는, 제2 서브유닛.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 182와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 183-185로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하며; 임의로 제1 및 제2 서브유닛이 각각 독립적으로 서열번호 181과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 51

제49항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 서브유닛이 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛이 서열번호 183-185로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하며; 임의로 제1 및 제2 서브유닛이 각각 독립적으로 서열번호 181의 아미노산 서열을 추가로 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 52

제28항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 인간 IgG 중쇄 불변 영역인, 이기능적 단백질.

청구항 53

제28항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 인간 IgG1 중쇄 불변 영역인, 이기능적 단백질.

청구항 54

제28항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 55

제28항 내지 제54항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, L234A, L235A, P329G, Y349C, S354C, T366S, T366W, L368A, F405K, K409A 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 56

제31항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 항체 중쇄 불변 영역 중 하나가 서열번호 90에 비해, S354C, T366W 및 K409A로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하고; 다른 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 57

제31항 내지 제56항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 항체 중쇄 불변 영역 중 하나가 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, 돌연변이 S354C, T366W 및 K409A를 포함하고; 다른 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 90에 비해, 돌연변이 Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V를 포함하는, 이기능적 단백질.

청구항 58

제31항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 제1 및 제2 항체 중쇄 불변 영역 중 하나가 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하고, 다른 항체 중쇄 불변 영역이 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함하는, 이기능적 단백질.

백질.

청구항 59

제27항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 SPR에 의해 측정된 바와 같이, PD-L1에 결합하는 포함된 항원-결합 부위와 비교하여 약 1 nM 미만의 K_D 또는 비슷한 또는 더 낮은 K_D 로 인간 PD-L1에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 60

제27항 내지 제59항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 SPR에 의해 측정된 바와 같이, 약 0.5 nM 미만 또는 약 0.1 nM 미만의 K_D 로 PD-L1에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 61

제27항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 약 0.4 nM 미만의 EC_{50} 으로 PD-L1에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 62

제27항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 PD-L1에 결합하기 위해 PD-1과 경쟁하거나, PD-1에 대한 PD-L1 결합을 억제하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 63

제27항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 PD-1에 대한 PD-L1 결합을 억제하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 64

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 SPR에 의해 측정된 바와 같이, 약 100 nM 미만, 약 80 nM 미만, 약 50 nM 미만, 약 10 nM 미만 또는 약 5 nM 미만의 K_D 로 IL-2R β 에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 65

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 SPR에 의해 측정된 바와 같이, 약 65 nM 미만 또는 약 50 nM 미만의 K_D 로 IL-2R β 에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 66

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 SPR에 의해 측정된 바와 같이, 약 40 nM 미만의 K_D 로 IL-2R α 에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 67

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 약 1 nM 미만의 EC_{50} 으로 IL-2R α 에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 68

제27항 내지 제30항 및 제38항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 약 5 nM 미만, 약 2.5 nM 미만, 약 1.5 nM 미만, 약 1 nM 미만 또는 약 0.6 nM 미만의 EC_{50} 으로 IL-2R β 에 결합하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 69

제27항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하는

것인, 이기능적 단백질.

청구항 70

제27항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 단리된 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)에서 측정된 바와 같이, 약 1 nM 미만, 약 0.6 nM 미만 또는 약 0.1 nM 미만의 EC_{50} 으로 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하고, 면역 세포가 T 세포, NK 세포 또는 T조절인 것인, 이기능적 단백질.

청구항 71

제27항 내지 제70항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 단리된 PBMC에서 측정된 바와 같이, 약 0.5 nM 미만 또는 약 0.1 nM 미만의 EC_{50} 으로 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하고, 면역 세포가 T 세포, NK 세포 또는 T조절인 것인, 이기능적 단백질.

청구항 72

제27항 내지 제71항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 마우스 비장세포에서 측정된 바와 같이 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하고, 면역 세포가 T 세포, NK 세포 또는 T조절인 것인, 이기능적 단백질.

청구항 73

제27항 내지 제72항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 생체내에서 종양 성장을 억제하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 74

제27항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 이기능적 단백질이 생체내에서 면역 세포 증식을 유도하는 것인, 이기능적 단백질.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 면역 세포가 T 세포 또는 NK 세포인, 이기능적 단백질.

청구항 76

제75항에 있어서, 상기 T 세포가 CD8⁺ T 세포인, 이기능적 단백질.

청구항 77

VH 및 VL을 포함하는 항체로서, VH는 서열번호 87의 폴리펩티드 서열을 포함하고, VH는 서열번호 88의 폴리펩티드 서열을 포함하는, 항체.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 항체가 서열번호 177 및 서열번호 181의 폴리펩티드 서열을 포함하는 것인, 항체.

청구항 79

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 항원-결합 부위, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항의 단백질, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항의 이기능적 단백질, 또는 제77항 또는 제78항의 항체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드.

청구항 80

제79항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 발현 벡터.

청구항 81

제79항의 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 제80항의 발현 벡터를 포함하는, 변형된 세포.

청구항 82

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 항원-결합 부위, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항의 단백질, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항의 이기능적 단백질, 또는 제77항 또는 제78항의 항체, 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는, 약학 조성물.

청구항 83

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항, 또는 제77항 또는 제78항에 있어서, 면역 반응의 조절을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 조정하는 방법에서의 용도를 위한, 항원-결합 부위, 단백질, 이기능적 단백질, 또는 항체.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 면역 반응을 조정하는 단계가 T 세포 활성을 향상시키는 단계 또는 NK 세포 활성을 향상시키는 단계 중 하나 이상을 포함하는 것인, 방법.

청구항 85

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항, 또는 제77항 또는 제78항에 있어서, 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법에서의 용도를 위한, 항원-결합 부위, 단백질, 이기능적 단백질, 또는 항체.

청구항 86

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항, 또는 제77항 또는 제78항에 있어서, 상기 질환이 암을 포함하는, 제85항에 따른 용도를 위한, 항원-결합 부위, 단백질, 이기능적 단백질, 또는 항체.

청구항 87

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항, 또는 제77항 또는 제78항에 있어서, 상기 암이 유방암, 췌장암, 폐암, 교모세포종, 신장 세포 암종 또는 흑색종을 포함하는, 제86항에 따른 용도를 위한, 항원-결합 부위, 단백질, 이기능적 단백질, 또는 항체.

청구항 88

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항, 또는 제77항 또는 제78항에 있어서, 상기 대상체가 추가적인 치료제로 치료되는, 제83항 내지 제87항 중 어느 한 항에 따른 용도를 위한, 항원-결합 부위, 단백질, 이기능적 단백질, 또는 항체.

청구항 89

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 항원-결합 부위, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항의 단백질, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항의 이기능적 단백질, 또는 제77항 또는 제78항의 항체, 또는 이의 약학 조성물의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 면역 반응의 조절을 필요로 하는 대상체에서 면역 반응을 조정하는 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 면역 반응을 조정하는 단계가 이펙터 T 세포 활성의 향상, NK 세포 활성의 향상 및 조절 T 세포 활성의 억압 중 하나 이상을 포함하는, 방법.

청구항 91

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항의 항원-결합 부위, 제11항 내지 제26항 중 어느 한 항의 단백질, 제27항 내지 제76항 중 어느 한 항의 이기능적 단백질, 또는 제77항 또는 제78항의 항체, 또는 이의 약학 조성물의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 질환이 암인, 방법.

청구항 93

제92항에 있어서, 상기 암이 유방암, 췌장암, 폐암, 교모세포종, 신장 세포 암종 또는 흑색종을 포함하는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록에 관한 진술

[0002] 이 출원과 연관된 서열 목록은 종이 사본 대신 텍스트 형식으로 제공되며, 참조로 명세서에 포함된다. 서열 목록을 함유하는 텍스트 파일의 명칭은 300096_402WO_SEQUENCE_LISTING.txt이다. 텍스트 파일은 220 KB이며 2021년 1월 20일에 생성되었으며, EFS-Web을 통해 전자적으로 제출되고 있다.

배경 기술

[0003] CD274 또는 B7 상동체 1 (B7-H1)로서 또한 알려진 PD-L1 (프로그래밍된 사멸-리간드 1)은 PD-L1이 T 세포 상의 PD-1에 결합할 때 IL-2 생산 및 T 세포 증식의 TCR-매개된 활성화를 억제하는 유형 1 막관통 단백질이다. 항-PD-L1 항체는 암의 치료를 위한 치료제로서 사용되어 왔다. 그러나, 종양 성장을 더 효과적으로 조정하기 위한 생물학적 치료제에 대한 요구가 남아있다.

발명의 내용

[0004] 간략한 요약

[0005] 본 개시내용은 쌍형성되어 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항원-결합 부위를 형성할 수 있는 항체 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 단백질을 제공한다. 본 개시내용의 단백질 또는 항원-결합 부위는 항체 또는 이 기능적 항체, 예컨대, 예를 들어, PD-L1/IL-2R β 이기능적 항체를 형성할 수 있다. 본 개시내용의 단백질 또는 항원-결합 부위는 암성 또는 감염성 병태 및 장애를 치료하거나 예방하기 위해 사용될 수 있다.

[0006] 일부 실시양태에서, 본원은 다음을 포함하는, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위를 개시한다: 서열번호 3, 11, 19, 33, 52 또는 63의 상보성-결정 영역 1 (CDR1) 서열; 서열번호 4, 12, 20, 34, 41, 53 또는 64의 상보성-결정 영역 2 (CDR2) 서열; 및 서열번호 5, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83, 86 또는 89의 상보성-결정 영역 3 (CDR3) 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH); 및 서열번호 6, 14, 22, 28, 36, 47, 55 또는 66의 CDR1 서열; 서열번호 7, 15, 23, 29, 37, 42, 48, 56, 60 또는 67의 CDR2 서열; 및 서열번호 8, 16, 24, 30, 38, 43, 49, 57 또는 68의 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL).

[0007] 일부 실시양태에서, 항원 결합 부위는 단일-쇄 단편 가변 단편 (scFv), 항원-결합 단편 (Fab), 항체 또는 유사한 항원 결합 단백질에 존재한다.

[0008] 일부 실시양태에서, 본원은 다음을 포함하는, 이기능적 단백질을 개시한다:

[0009] (a) 다음을 포함하는, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위:

[0010] (i) 서열번호 3, 11, 19, 33, 52 또는 63의 상보성-결정 영역 1 (CDR1); 서열번호 4, 12, 20, 34, 41, 53 또는 64의 상보성-결정 영역 2 (CDR2); 및 서열번호 55, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83, 86 또는 89의 상보성-결정 영역 3 (CDR3)을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH); 및

[0011] (ii) 서열번호 6, 14, 22, 28, 36, 47, 55 또는 66의 CDR1 서열; 서열번호 7, 15, 23, 29, 37, 42, 48, 56, 60 또는 67의 CDR2 서열; 및 서열번호 8, 16, 24, 30, 38, 43, 49, 57 또는 68의 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL); 및

[0012] (b) 인터루킨-15 (IL-15) 폴리펩티드, 인터루킨-15 수용체 알파 (IL-15R α) 폴리펩티드, 야생형 인터루킨-2 (IL-2) 폴리펩티드 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체.

[0013] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 방법은 항원-결합 부위, 단백질 또는 항체, 이기능적 단백질 또는 항체, 또는 이의 약학 조성물의 치료적 유효

량을 대상체에 투여하는 단계를 포함한다. 특정 양태에서, 질환은 암이다.

[0014]

본 개시내용의 이들 및 다른 양태는 다음의 상세한 설명 및 첨부된 도면을 참조하면 명백해질 것이다. 본원에 게시된 모든 참조는 마치 각각이 개별적으로 포함된 것처럼 그 전체가 참조로 본원에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0015]

도 1은 PD-L1에 대한 식별된 scFv의 ELISA 결합을 도시한다.

도 2a 및 2b는 높은 수준의 세포 표면 인간 PD-L1을 발현하도록 조작된 K562 세포에 결합하는 식별된 scFv의 FACS 분석을 도시한다.

도 3a 및 3b는 HTRF에서 식별된 scFv에 대한 PD-1 및 PD-L1 경쟁 결과를 도시한다.

도 4는 식별된 scFv에 대한 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정의 결과를 도시한다.

도 5는 PD-L1에 대한 친화도 성숙된 scFv의 ELISA 결합을 도시한다.

도 6은 높은 수준의 세포 표면 인간 PD-L1을 발현하도록 조작된 K562 세포에 대한 친화도 성숙된 scFv 결합의 FACS 분석을 도시한다.

도 7은 HTRF에서 친화도 성숙된 scFv에 대한 PD-1 및 PD-L1 경쟁 결과를 도시한다.

도 8은 친화도 성숙된 scFv에 대한 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정을 도시한다.

도 9는 항체, 이기능적 항체 및 대안적인 분자 형식을 도시한다. 이기능적 형식은 각각 PD-L1에 결합하고 IL-2 사이토카인을 포함하거나 PD-L1에 결합하고 IL-15 사이토카인을 포함하는 것들을 포함한다.

도 10은 높은 수준의 세포 표면 인간 PD-L1을 발현하도록 조작된 K562 세포에 대한 항-PD-L1 IgG 항체 결합의 FACS 분석을 도시한다.

도 11은 항-PD-L1/IL-15 융합 항체에 대한 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정을 도시한다.

도 12a-12d는 항-PD-L1/IL-15 융합 항체의 p-STAT5 활성화 결과를 도시한다. 도 12a는 CD4+FoxP3-T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 12b는 NK 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 12c는 CD8+ T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 12d는 T 조절 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다.

도 13a 및 13b는 IL-2 수용체에 대한 IL-2-Fc 클론의 ELISA 결합을 도시한다. 도 13a는 IL-2R α 수용체에 대한 IL-2-Fc 클론의 ELISA 결합을 도시한다. 도 13b는 IL-2R β 수용체에 대한 IL-2-Fc의 ELISA 결합을 도시한다.

도 14a-14h는 2 개의 별개의 공여자의 인간 PBMC로부터의 세포에서 수행된 IL-2-Fc 클론에 의한 p-STAT5 활성화 검정을 도시한다. 도 14a는 공여자 126으로부터의 CD4+ T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14b는 공여자 126으로부터의 CD8+ T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14c는 공여자 126으로부터의 NK 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14d는 공여자 126으로부터의 T 조절 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14e는 공여자 359로부터의 CD4+ T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14f는 공여자 359로부터의 CD8+ T 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14g는 공여자 359로부터의 NK 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 14h는 공여자 359로부터의 T 조절 세포에서의 p-STAT5 활성화를 도시한다.

도 15a-15c는 IL-2 수용체 (IL-2R α 또는 IL-2R β) 및 PD-L1에 대한 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 15a는 IL-2R α 에 대한 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 15b는 IL-2R β 에 대한 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 15c는 PD-L1에 대한 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체의 ELISA 결합을 도시한다.

도 16은 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체의 PD-1 및 PD-L1 상호작용 차단 활성화에 대한 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정을 도시한다.

도 17a-17h는 IL-2/항-PD-L1 scFv Fc 변이체에 의한 2 개의 별개의 공여자의 인간 PBMC로부터의 CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 17a는 공여자 359로부터의 CD4+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17b는 공여자 359로부터의 CD8+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17c는 공여자 359로부터의 NK 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17d는 공여자 359로부터의 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17e는 공여자 126으로부터의 CD4+ 세포

에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17f는 공여자 126으로부터의 CD8+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17g는 공여자 126으로부터의 NK 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 17h는 공여자 126으로부터의 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다.

도 18a-18c는 IL-2 수용체 (IL-2R α 또는 IL-2R β) 및 PD-L1에 대한 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 18a는 IL-2R α 에 대한 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 18b는 IL-2R β 에 대한 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체의 ELISA 결합을 도시한다. 도 18c는 PD-L1에 대한 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체의 ELISA 결합을 도시한다.

도 19는 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체의 PD-1 및 PD-L1 상호작용 차단 활성에 대한 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정을 도시한다.

도 20은 PD-L1 및 IL-2 수용체 (IL-2R α 또는 IL-2R β)에 동시에 결합하는 IL-2/항-PD-L1 Fab 이기능적 변이체의 센서그램을 도시한다.

도 21a-21h는 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체에 의한, 2 개의 별개의 공여자의 인간 PBMC로부터의 CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 21a는 공여자 857로부터의 CD4+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21b는 공여자 857로부터의 CD8+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21c는 공여자 857로부터의 NK 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21d는 공여자 857로부터의 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21e는 공여자 359로부터의 CD4+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21f는 공여자 359로부터의 CD8+ 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21g는 공여자 359로부터의 NK 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 21h는 공여자 359로부터의 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다.

도 22a-22d는 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체에 의한, 마우스 비장세포에서의 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 22a는 CD4+ T 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 22b는 CD8+ T 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 22c는 NK 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다. 도 22d는 T 조절 세포의 p-STAT5 활성화를 도시한다.

도 23은 20 일 동안 조작된 항-PD-L1 mAb (EP205/EP206) Q3D 또는 아테졸리주맙으로 처리한 후 인간화된 마우스 MB-231 모델에서의 억제 데이터로부터 플롯팅된 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

도 24a-24b는 20 일 동안 항-PD-L1 mAb (EP205/EP206) Q3D 또는 아테졸리주맙으로 처리한 후 인간화된 마우스 MB-231 모델로부터의 혈장에서 인간 TNF α (도 24a) 및 IFN γ (도 24b)의 수준을 도시한다.

도 25a-25d는 11 일 동안 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체로 처리한 후 MC38 종양 보유 마우스의 혈액 면역 세포 프로파일링을 도시한다. 도 25a는 CD4+ FOXP3-T 세포 (대조군)의 프로파일링을 도시한다. 도 25b는 CD8+ T 세포의 프로파일링을 도시한다. 도 25c는 NK 세포의 프로파일링을 도시한다. 도 25d는 T 조절 세포의 프로파일링을 도시한다.

도 26a-26d는 11 일 동안 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체로 처리한 후 MC38 종양 보유 마우스의 비장세포 면역 세포 프로파일링을 도시한다. 도 26a는 CD4+ FOXP3-T 세포 (대조군)의 프로파일링을 도시한다. 도 26b는 CD8+ T 세포의 프로파일링을 도시한다. 도 26c는 NK 세포의 프로파일링을 도시한다. 도 26d는 T 조절 세포의 프로파일링을 도시한다.

도 27은 20 일 동안 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체 또는 아테졸리주맙으로 처리된 hPD1 트랜스제닉 마우스에서 B16F10-PD-L1 종양의 억제 데이터로부터 수득된 시간 경과에 따른 종양 부피의 억제 데이터로부터 플롯팅된 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

도 28은 20 일 동안 IL-2/항-PD-L1 Fab 변이체 또는 아테졸리주맙으로 처리된 MB-231 종양 NCG 마우스 모델로부터 수득된 시간 경과에 따른 종양 부피의 억제 데이터로부터 플롯팅된 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

도 29a-29b는 항-PD-L1-Fab/IL2 융합 단백질에 의한 인간 PBMC의 처리 후 T 세포에서의 PD-1의 발현 수준을 도시한다. 도 29a는 EP290/EP325/EP205 또는 EP415/EP325/EP205로 처리한 지 5-일 후 CD8+ T 세포에서의 PD-1의 발현을 도시한다. 도 29b는 EP290/EP325/EP205 또는 EP415/EP325/EP205로 처리한 지 5-일 후 T 조절 세포에서의 PD-1의 발현을 도시한다.

도 30a-30b는 IL2R β γ 에 대한 항-PD-L1-Fab/IL2 융합 단백질의 결합을 도시한다. 도 30a는 HEK Blue IL2 세포

주에서 CD25, CD122 및 PD-L1의 발현 수준을 도시한다. 도 30b는 항-CD25 항체의 존재 또는 부재 하에 IL2R에 대한 EP290/EP325/EP205, EP415/EP325/EP205의 결합을 도시한다.

도 31a-31b는 생체내에서 형광 표지된 EP415/EP325/EP205의 종양 국소화를 도시한다. 도 31a는 형광 표지된 EP415/EP325/EP205 주사 24 시간 후 C57BL/6N 및 B6N 알비노 종양 보유 마우스의 대표적인 이미지를 도시한다. 도 31b는 MC-38-hPD-L1 및 MC-38 종양 부위에 대한 EP415/EP325/EP205의 시간 의존적 강화를 도시한다.

도 32a-32e는 인간화된 NCG 마우스에서 시간 경과에 따른 종양 부피를 나타내고, 종양 부위에 존재하는 면역 세포를 정량화한다. 도 32a는 인간화된 NCG 마우스에서 항-PD1/PD-L1 반응성 암 세포 MDA-MB-231에 대한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. 도 32b는 종양 부위에서 CD4+ T 세포의 수준을 도시한다. 도 32c는 종양 부위에서 CD8+ T 세포의 수준을 도시한다. 도 32d는 종양 부위에서 NK 세포의 수준을 도시한다. 도 32e는 종양 부위에서 T조절 세포의 수준을 도시한다.

도 33a-33b는 감기 종양의 무린 모델에서 수행된 실험의 결과를 도시한다. 도 33a는 인간화된 마우스에서 COLO205 종양에 대한 비히클 대조군 및 항-PD-L1 EP205/EP206과 비교한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. 도 33b는 도 33a에서 마우스의 상응하는 체중 변화를 도시한다.

도 34a-34f는 항-PD1 항체 저항성 종양의 무린 모델에서 수행된 실험의 결과를 도시한다. 도 34a는 인간화된 마우스에서 H1975 암 세포 종양에 대한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. 도 34b는 도 34b에서 마우스의 상응하는 체중 변화를 도시한다. 도 34c는 종양 mm³당 hCD45 발현 세포의 갯수를 도시한다. 도 34d는 T조절 세포에 대한 CD8+ T 세포의 비를 도시한다. 도 34e는 종양 mm³당 CD8+ T 세포의 갯수를 도시한다. 도 34f는 T 조절 세포에 대한 NK 세포의 비를 도시한다.

도 35a-35c는 사이노물구스 원숭이 모델에서 수행된 실험의 결과를 도시한다. 도 35a는 ELISA에 의해 원숭이 혈장에서 검출되고 시간에 대해 플롯팅된 EP415/EP325/EP205의 농도를 도시한다. 도 35b는 0.1 mg/kg EP415/EP325/EP205로 투약한 후 원숭이 혈액에서의 면역 세포 집단의 백분율을 도시한다. 도 35c는 0.5 mg/kg EP415/EP325/EP205로 투약한 후 원숭이 혈액에서의 면역 세포 집단의 백분율을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 항-PD-L1 항체는 유망한 면역치료제였지만, 종양을 더 효과적으로 조정하기 위해 생물학적 치료제를 활용할 필요성이 남아있다. 사이토카인, 예컨대, IL-2 및 IL-15를 사용한 면역요법은 암 치료에 효과적인 것으로 나타났다. 따라서, PD-L1을 표적화하는 항체는 IL-2 및 IL-15를 추가로 표적화할 때 유용한 면역조정인 것으로 입증될 수 있다. 본원은 새로운 항-PD-L1 항체, scFv 및 Fab 폴리펩티드를 제공한다. 게다가, 본원은 (a) 항-PD-L1 항체, scFv 또는 Fab 폴리펩티드, 및 (b)(i) IL-15, IL-15R α 또는 둘 모두, 또는 (ii) IL-2 또는 이의 조작된 변이체를 포함하는 이기능적 융합 단백질을 제공한다.
- [0017] 본 개시내용은 인간 PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위를 제공한다. 이들 항원-결합 부위는 PD-L1의 세포외 도메인에서 다양한 에피토프에 결합할 수 있다. 이러한 항원-결합 부위를 함유하는 단백질 및 단백질 컨주게이트, 예컨대, 항체, 이기능적 항체, 항체-약물 컨주게이트, 면역사이토카인 및 이중특이적 T-세포 인게이지뿐만 아니라 이러한 항원-결합 부위 (예컨대, 키메라 항원 수용체 (CAR))를 함유하는 단백질을 발현하는 면역 이펙터 세포 (예컨대, T 세포)는 PD-L1과 연관된 암과 같은 질환을 치료하는 데 유용하다. 본 개시내용은 또한 이러한 단백질, 단백질 컨주게이트, 면역 이펙터 세포를 포함하는 약학 조성물, 뿐만 아니라 비제한적으로 암 치료를 포함하여, 이러한 단백질, 단백질 컨주게이트, 면역 이펙터 세포 및 약학 조성물을 사용하기 위한 치료적 방법을 제공한다. 본 개시내용에 기재된 항원-결합 부위의 다양한 양태는 아래 섹션에 기재되어 있으나; 본 개시내용의 특정 섹션에 기재된 항원-결합 부위의 양태는 임의의 구체적인 섹션으로 제한되는 것으로 간주되지 않는다.
- [0018] 정의
- [0019] 본 개시내용을 보다 상세하게 설명하기 전에, 본원에 사용될 특정 용어의 정의를 제공하는 것이 이의 이해에 도움이 될 수 있다. 추가적인 정의는 본 개시내용 전반에 걸쳐 제시된다.
- [0020] 본원에 달리 정의되지 않는 한, 과학 및 기술 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 갖는다. 추가로, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수형 용어는 복수를 포함해야 하고 복수형 용어는 단수를 포함해야 한다.
- [0021] 본 설명에서, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 달리 나타내지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수의 값 및 적절한 경우 이의 분율 (예컨대, 정수의 10분의 1 및 100분의 1)를 포함하는 것으로

이해되어야 한다. 또한, 임의의 물리적 특징, 예컨대, 중합체 서브유닛, 크기 또는 두께와 관련하여 본원에 인용된 임의의 숫자 범위는 달리 나타내지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "약"은 달리 나타내지 않는 한, 표시된 범위, 값 또는 구조의 $\pm 20\%$ 를 의미한다. 본원에 사용된 바와 같은 용어 "(단수형)"은 열거된 구성요소 중 "하나 이상"을 지칭하는 것으로 이해되어야 한다. 대안의 사용 (예컨대, "또는")은 대안 중 하나, 둘 모두 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "포함한다(include)", "갖는다" 및 "포함한다(comprise)"는 동의어로 사용되며, 용어 및 이들의 변이형은 비-제한적인 것으로서 해석되도록 의도된다.

- [0022] "임의로" 또는 "임의적으로"는 후속적으로 기재된 요소, 구성요소, 이벤트 또는 상황이 발생할 수 있거나 발생하지 않을 수 있으며, 설명은 이 요소, 구성요소, 이벤트 또는 상황이 발생하는 사례 및 발생하지 않는 사례를 포함함을 의미한다.
- [0023] 게다가, 본원에 기재된 구조 및 서브유닛의 다양한 조합으로부터 유래된 개별 작제물 또는 작제물의 그룹은 각각의 작제물 또는 작제물의 그룹이 개별적으로 제시된 것과 동일한 정도로 본 출원에 의해 개시된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 특정 구조 또는 특정 서브유닛의 선택은 본 개시내용의 범주 내에 있다.
- [0024] 용어 "본질적으로 이로 이루어진"은 "포함하는"과 동등하지 않으며 청구범위의 명시된 물질 또는 단계 또는 청구된 대상의 기본 특질에 실질적으로 영향을 미치지 않는 것들을 지칭한다. 예를 들어, 단백질 도메인, 영역 또는 모듈 (예컨대, 결합 도메인, 힌지 영역 또는 링커) 또는 단백질 (하나 이상의 도메인, 영역 또는 모듈을 가질 수 있음)은 도메인, 영역, 모듈 또는 단백질의 아미노산 서열이, 조합하여 도메인, 영역, 모듈 또는 단백질의 길이의 최대 20% (예컨대, 최대 15%, 10%, 8%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% 또는 1%)에 기여하고 도메인(들), 영역(들), 모듈(들) 또는 단백질의 활성 (예컨대, 결합 단백질의 표적화 결합 친화도)에 실질적으로 영향을 미치지 않는 (즉, 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5% 또는 1% 이하와 같이, 50% 초과로 활성을 감소시키지 않는) 연장, 결실, 돌연변이 또는 이들의 조합 (예컨대, 아미노- 또는 카복시-말단 또는 도메인 사이의 아미노산)을 포함할 때 특정 아미노산 서열로 "본질적으로 이루어진다".
- [0025] 본원에 사용된 바와 같이, "아미노산"은 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체뿐만 아니라 자연 발생 및 합성 아미노산을 지칭한다. 자연 발생 아미노산은 유전자 코드에 의해 인코딩된 아미노산뿐만 아니라 나중에 변형되는 아미노산, 예컨대, 하이드록시프롤린, γ -카복시글루타메이트 및 0-포스포세린이다. 아미노산 유사체는 자연 발생 아미노산, 즉, 수소, 카복실 기, 아미노 기 및 R 기, 예컨대, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설폭사이드, 메티오닌 메틸 설포늄에 결합된 α -탄소와 동일한 기본 화학 구조를 갖는 화합물을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기 (예컨대, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만, 자연 발생 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다. 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만 자연 발생 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학 화합물을 지칭한다.
- [0026] 본원에 사용된 바와 같이, "돌연변이"는 각각 참조 또는 야생형 핵산 분자 또는 폴리펩티드 분자와 비교하여 핵산 분자 또는 폴리펩티드 분자의 서열에서의 변화를 지칭한다. 돌연변이는 뉴클레오티드(들) 또는 아미노산(들)의 치환, 삽입 또는 결실을 포함하여, 서열에서의 여러 상이한 유형의 변화를 초래할 수 있다.
- [0027] "보존적 치환"은 특정 단백질의 결합 특질에 유의하게 영향을 미치지거나 변경시키지 않는 아미노산 치환을 지칭한다. 일반적으로, 보존적 치환은 치환된 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이다. 보존적 치환은 다음의 그룹 중 하나에서 발견되는 치환을 포함한다: 그룹 1: 알라닌 (Ala 또는 A), 글리신 (Gly 또는 G), 세린 (Ser 또는 S), 트레오닌 (Thr 또는 T); 그룹 2: 아스파르트산 (Asp 또는 D), 글루탐산 (Glu 또는 E); 그룹 3: 아스파라긴 (Asn 또는 N), 글루타민 (Gln 또는 Q); 그룹 4: 아르기닌 (Arg 또는 R), 리신 (Lys 또는 K), 히스티딘 (His 또는 H); 그룹 5: 이소류신 (Ile 또는 I), 류신 (Leu 또는 L), 메티오닌 (Met 또는 M), 발린 (Val 또는 V); 및 그룹 6: 페닐알라닌 (Phe 또는 F), 티로신 (Tyr 또는 Y), 트립토판 (Trp 또는 W). 추가적으로 또는 대안적으로, 아미노산은 유사한 기능, 화학 구조 또는 조성 (예컨대, 산성, 염기성, 지방족, 방향족 또는 황-함유)에 의해 보존적 치환 그룹으로 그룹화될 수 있다. 예를 들어, 지방족 그룹화는 치환을 위해, Gly, Ala, Val, Leu 및 Ile를 포함할 수 있다. 다른 보존적 치환 기는 다음을 포함한다: 황-함유: Met 및 시스테인 (Cys 또는 C); 산성: Asp, Glu, Asn 및 Gln; 작은 지방족, 비극성 또는 약한 극성 잔기: Ala, Ser, Thr, Pro 및 Gly; 극성, 음전하 잔기 및 이들의 아미드: Asp, Asn, Glu 및 Gln; 극성, 양전하 잔기: His, Arg 및 Lys; 큰 지방족, 비극성 잔기: Met, Leu, Ile, Val 및 Cys; 및 큰 방향족 잔기: Phe, Tyr 및 Trp. 추가적인 정보는 Creighton (1984) Proteins, W.H. Freeman and Company에서 찾아볼 수 있다.
- [0028] 본원에 사용된 바와 같이, "단백질" 또는 "폴리펩티드"는 아미노산 잔기의 중합체를 지칭한다. 단백질은 자연

발생 아미노산 중합체뿐만 아니라 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 자연 발생 아미노산 및 비-자연 발생 아미노산 중합체의 인공적인 화학적 모방체인 아미노산 중합체에 적용된다. 본 개시내용의 단백질, 펩티드 및 폴리펩티드의 변이체가 또한 고려된다. 특정 실시양태에서, 변이체 단백질, 펩티드 및 폴리펩티드는 본원에 기재된 바와 같은 정의된 또는 참조 아미노산 서열의 아미노산 서열과 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 99.9% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.

[0029] 본원에 사용된 바와 같이, "핵산 분자" 또는 "폴리뉴클레오타이드" 또는 "다중핵산"은 자연 서브유닛 (예컨대, 퓨린 또는 피리미딘 염기) 또는 비-자연 서브유닛 (예컨대, 모르폴린 고리)으로 구성된 수 있는 공유 연결된 뉴클레오타이드를 포함하는 중합체성 화합물을 지칭한다. 퓨린 염기는 아데닌, 구아닌, 하이포크산틴 및 크산틴을 포함하며, 피리미딘 염기는 우라실, 티민 및 시토신을 포함한다. 핵산 분자는 mRNA, 마이크로RNA, siRNA, 바이러스 게놈 RNA 및 합성 RNA를 포함하는 폴리리보핵산 (RNA), 및 cDNA, 게놈 DNA 및 합성 DNA를 포함하는 폴리데옥시리보핵산 (DNA)을 포함하며, 이들 중 어느 하나는 단일 또는 이중 가닥일 수 있다. 단일-가닥인 경우, 핵산 분자는 코딩 가닥 또는 비-코딩 (안티-센스) 가닥일 수 있다. 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 분자는 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 모든 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 뉴클레오타이드 서열의 일부 버전은 또한 인트론(들)이 공동-전사 또는 전사-후 메커니즘을 통해 제거될 정도로 인트론(들)을 포함할 수 있다. 다시 말해, 상이한 뉴클레오타이드 서열은 유전자 코드의 중복 또는 축퇴의 결과로서 또는 스플라이싱에 의해 동일한 아미노산 서열을 인코딩할 수 있다.

[0030] 본 개시내용의 핵산 분자의 변이체가 또한 고려된다. 변이체 핵산 분자는 본원에 기재된 바와 같은 정의된 또는 참조 폴리뉴클레오타이드의 핵산 분자와 70%, 75%, 80%, 85%, 90% 이상, 그리고 바람직하게는 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 99.9% 동일하거나, 약 65-68°C에서 0.015 M 소듐 클로라이드, 0.0015 M 소듐 시트레이트 또는 약 42°C에서 0.015 M 소듐 클로라이드, 0.0015 M 소듐 시트레이트 및 50% 포름아미드의 엄격한 혼성화 조건 하에서 폴리뉴클레오타이드에 혼성화한다. 핵산 분자 변이체는 본원에 기재된 기능성, 예컨대, 표적화 분자에 결합하는 것을 갖는 이의 결합 도메인을 인코딩하는 능력을 보유한다.

[0031] 본원에 사용된 바와 같이, "퍼센트 서열 동일성"은 서열을 비교함으로써 결정된 바와 같이, 2 개 이상의 서열 사이의 관계를 지칭한다. 서열 동일성을 결정하기 위한 바람직한 방법은 비교될 서열 사이에 최상의 매칭을 제공하도록 설계된다. 예를 들어, 서열은 최적의 비교 목적을 위해 정렬된다 (예컨대, 값이 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 아미노산 또는 핵산 서열 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있다). 추가로, 비-상동 서열은 비교 목적으로 무시될 수 있다. 본원에 언급된 서열 동일성 퍼센트는 달리 나타내지 않는 한, 참조 서열의 길이에 대해 계산된다. 서열 동일성 및 유사성을 결정하는 방법은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 프로그램에서 찾아볼 수 있다. 서열 정렬 및 퍼센트 동일성 계산은 BLAST 프로그램 (예컨대, BLAST 2.0, BLASTP, BLASTN 또는 BLASTX)을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 프로그램에 사용된 수학적 알고리즘은 Altschul *et al.*, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402, 1997에서 찾아볼 수 있다. 본 개시내용의 문맥 내에서, 서열 분석 소프트웨어가 분석을 위해 사용되는 경우, 분석의 결과는 참조된 프로그램의 "디폴트 값"을 기반으로 한다는 것이 이해될 것이다. "디폴트 값"은 처음 초기화될 때 소프트웨어와 함께 원래 로딩되는 값 또는 매개변수의 임의의 세트를 의미한다.

[0032] 용어 "단리된"은 물질이 원래 환경 (예컨대, 자연적으로 발생하는 경우 자연 환경)으로부터 제거되었음을 의미한다. 예를 들어, 살아있는 동물에 존재하는 자연 발생 핵산 또는 폴리펩티드는 단리되지 않지만, 자연계에 공존하는 물질의 일부 또는 전부로부터 분리된 동일한 핵산 또는 폴리펩티드는 단리된다. 이러한 핵산은 벡터의 일부일 수 있고/있거나 이러한 핵산 또는 폴리펩티드는 조성물 (예컨대, 세포 용해물)의 일부일 수 있고, 이러한 벡터 또는 조성물이 핵산 또는 폴리펩티드에 대한 자연 환경의 일부가 아니라는 점에서 여전히 단리될 수 있다.

[0033] "기능적 변이체"는 폴리펩티드 또는 인코딩된 폴리펩티드가 모체 폴리펩티드의 활성의 50% 이상의 효율, 바람직하게는 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.9% 이상 또는 100% 수준으로 모체 폴리펩티드의 하나 이상의 기능을 수행할 수 있도록, 본 개시내용의 모체 또는 참조 화합물과 구조적으로 유사하거나 실질적으로 구조적으로 유사하지만 조성이 약간 상이한 (예컨대, 하나의 염기, 원자 또는 기능적기가 상이하거나, 첨가되거나, 제거된) 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 다시 말해, 본 개시내용의 폴리펩티드 또는 인코딩된 폴리펩티드의 기능적 변이체는 기능적 변이체가 결합 친화도를 측정하기 위한 검정 (예컨대, 회합 (K_a) 또는 해리 (K_D) 상수를 측정하는 사합체 염색 또는 Biacore®)과 같은 모체 또는 참조 폴리펩티드와 비교하여 선택된 검정에서 성능의 50% 이하 감소를 나타낼 때 "유사한 결합", "유사한 친화도" 또는 "유사한 활성"을 갖는다.

- [0034] 본원에 사용된 바와 같이, "기능적 부분" 또는 "기능적 단편"은 모체 또는 참조 화합물의 도메인, 부분 또는 단편만을 포함하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드를 지칭하며, 폴리펩티드 또는 인코딩된 폴리펩티드는 모체 또는 참조 화합물의 도메인, 부분 또는 단편과 연관된 50% 이상의 활성, 바람직하게는 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.9% 또는 100% 수준의 모체 폴리펩티드의 활성을 보유하거나, 생물학적 이익 (예컨대, 이펙터 기능)을 제공한다. 본 개시내용의 폴리펩티드 또는 인코딩된 폴리펩티드의 "기능적 부분" 또는 "기능적 단편"은 기능적 부분 또는 단편이 모체 또는 참조 폴리펩티드와 비교하여 선택된 검정에서 성능의 50% 이하 (바람직하게는 친화도와 관련하여 모체 또는 참조와 비교하여 20% 또는 10% 이하, 또는 로그 차이 이하)의 감소를 나타낼 때 "유사한 결합" 또는 "유사한 활성"을 갖는다.
- [0035] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "조작된", "재조합" 또는 "비-자연"은 하나 이상의 유전적 변경을 포함하거나 외인성 또는 이중 핵산 분자의 도입에 의해 변형된 유기체, 미생물, 세포, 핵산 분자 또는 벡터를 지칭하며, 여기서 이러한 변경 또는 변형은 유전적 조작 (즉, 인간 개입)에 의해 도입된다. 유전적 변경은 예를 들어, 기능적 RNA, 단백질, 융합 단백질 또는 효소를 인코딩하는 발현가능한 핵산 분자를 도입하는 변형, 또는 세포의 유전 물질의 기타 핵산 분자 첨가, 결실, 치환 또는 기타 기능적 붕괴를 포함한다. 추가적인 변형은 예를 들어, 변형이 폴리뉴클레오티드, 유전자 또는 오페론의 발현을 변경하는 비-코딩 조절 영역을 포함한다.
- [0036] 본원에 사용된 바와 같이, "이중" 또는 "비-내인성" 또는 "외인성"은 숙주 세포 또는 대상체에 고유하지 않은 임의의 유전자, 단백질, 화합물, 핵산 분자, 또는 활성, 또는 변경된 숙주 세포 또는 대상체에 고유한 임의의 유전자, 단백질, 화합물, 핵산 분자 또는 활성을 지칭한다. 이중, 비-내인성 또는 외인성은 구조, 활성 또는 둘 모두가 천연 및 변경된 유전자, 단백질, 화합물 또는 핵산 분자 간에 상이하도록 돌연변이되거나 달리 변경된 유전자, 단백질, 화합물 또는 핵산 분자를 포함한다. 특정 실시양태에서, 이중, 비-내인성, 또는 외인성 유전자, 단백질, 또는 핵산 분자 (예컨대, 수용체, 리간드 등)는 숙주 세포 또는 대상체에 대해 내인성일 수 없지만, 대신 이러한 유전자를 인코딩하는 핵산, 단백질 또는 핵산 분자는 컨쥬게이션, 형질전환, 형질주입 또는 전기천공 등에 의해 숙주 세포에 첨가되었을 수 있으며, 여기서 첨가된 핵산 분자는 숙주 세포 계능 내로 통합될 수 있거나, 염색체-외 유전 물질 (예컨대, 플라스미드 또는 기타 자기-복제 벡터)로서 존재할 수 있다. 용어 "상동" 또는 "상동체"는 유전자, 단백질, 화합물, 핵산 분자, 또는 숙주 세포, 종 또는 균주에서 발견되거나 이로부터 유래된 활성을 지칭한다. 예를 들어, 이중 또는 외인성 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드를 인코딩하는 유전자는 천연 폴리뉴클레오티드 또는 유전자에 대해 상동일 수 있고 상동 폴리펩티드 또는 활성을 인코딩할 수 있지만, 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드는 변경된 구조, 서열, 발현 수준 또는 이들의 임의의 조합을 가질 수 있다. 비-내인성 폴리뉴클레오티드 또는 유전자뿐만 아니라 인코딩된 폴리펩티드 또는 활성은 동일한 종, 상이한 종 또는 이들의 조합으로부터 유래될 수 있다.
- [0037] 특정 실시양태에서, 숙주 세포에 고유한 핵산 분자 또는 이의 일부는 이것이 변경되거나 돌연변이된 경우 숙주 세포에 대해 이중인 것으로 간주될 것이거나, 숙주 세포에 고유한 핵산 분자는 이것이 이중 발현 제어 서열로 변경되거나 숙주 세포에 고유한 핵산 분자와 정상적으로 회합되지 않는 내인성 발현 제어 서열로 변경된 경우 이중인 것으로 간주될 수 있다. 게다가, 용어 "이중"은 숙주 세포에 대해 상이하거나 변경되거나 내인성이 아닌 생물학적 활성을 지칭할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 하나 초과와 이중 핵산 분자는 별개의 핵산 분자로서, 복수의 개별적으로 제어되는 유전자로서, 폴리시스트론 핵산 분자로서, 융합 단백질을 인코딩하는 단일 핵산 분자로서, 또는 이들의 임의의 조합으로 숙주 세포 내로 도입될 수 있다.
- [0038] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "내인성" 또는 "천연"은 일반적으로 숙주 세포 또는 대상체에 존재하는 폴리뉴클레오티드, 유전자, 단백질, 화합물, 분자 또는 활성을 지칭한다.
- [0039] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "발현"은 유전자와 같은 핵산 분자의 인코딩 서열에 기반하여 폴리펩티드가 생산되는 공정을 지칭한다. 공정은 전사, 전사-후 제어, 전사-후 변형, 번역, 번역-후 제어, 번역-후 변형 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 발현된 핵산 분자는 전형적으로 발현 제어 서열 (예컨대, 프로모터)에 작동가능하게 연결된다.
- [0040] 용어 "작동가능하게 연결된"은 하나의 기능이 다른 것에 의해 영향을 받도록 단일 핵산 단편에 2 개 이상의 핵산 분자가 회합된 것을 지칭한다. 예를 들어, 프로모터는 해당 코딩 서열의 발현에 영향을 미칠 수 있을 때 (즉, 코딩 서열이 프로모터의 전사 제어하에 있음) 코딩 서열과 작동가능하게 연결되어 있다. "연결되지 않은"은 연관된 유전 요소가 서로 밀접하게 연관되지 않고 하나의 기능이 다른 것에 영향을 미치지 않음을 의미한다.
- [0041] 본원에 기재된 바와 같이, 하나 초과와 이중 핵산 분자는 별개의 핵산 분자로서, 복수의 개별적으로 제어되는 유전자로서, 폴리시스트론 핵산 분자로서, 융합 단백질을 인코딩하는 단일 핵산 분자로서, 또는 이들의 임의의

조합으로 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 2 개 이상의 이중 핵산 분자가 숙주 세포 내로 도입되는 경우, 2 개 이상의 이중 핵산 분자는 단일 부위 또는 다중 부위에서 숙주 염색체 내로 통합된 별개의 벡터 상에서 (예컨대, 단일 벡터 상의) 단일 핵산 분자로서 또는 이들의 임의의 조합으로 도입될 수 있는 것으로 이해된다. 참조된 이중 핵산 분자 또는 단백질 활성의 수는 숙주 세포 내로 도입된 별개의 핵산 분자의 수가 아니라 인코딩 핵산 분자의 수 또는 단백질 활성의 수를 지칭한다.

[0042] 용어 "작제물"은 재조합 핵산 분자 (또는 문맥이 명확하게 나타내는 경우, 본 개시내용의 융합 단백질)를 함유하는 임의의 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. (폴리뉴클레오티드) 작제물은 벡터 (예컨대, 박테리아 벡터, 바이러스 벡터)에 존재할 수 있거나, 게놈 내로 통합될 수 있다. "벡터"는 다른 핵산 분자를 수송할 수 있는 핵산 분자이다. 벡터는 예를 들어, 플라스미드, 코스미드, 바이러스, RNA 벡터, 또는 염색체, 비-염색체, 반-합성 또는 합성 핵산 분자를 포함할 수 있는 선형 또는 환형 DNA 또는 RNA 분자일 수 있다. 본 개시내용의 벡터는 또한 트랜스포존 시스템을 포함한다 (예컨대, Sleeping Beauty, 예를 들어, *Geurts et al.*, *Mol. Ther.* 8:108, 2003; *Mátés et al.*, *Nat. Genet.* 41:753, 2009 참고). 예시적인 벡터는 자율 복제가 가능한 것들 (예피솜 벡터), 세포 게놈에 폴리뉴클레오티드를 전달할 수 있는 것들 (예컨대, 바이러스 벡터), 또는 이들이 연결된 핵산 분자를 발현할 수 있는 것들 (발현 벡터)이다.

[0043] 본원에 사용된 바와 같이, "발현 벡터"는 적합한 숙주에서 핵산 분자의 발현에 영향을 미칠 수 있는 적합한 제어 서열에 작동가능하게 연결된 핵산 분자를 함유하는 DNA 작제물을 지칭한다. 이러한 제어 서열은 전사를 수행하기 위한 프로모터, 이러한 전사를 제어하기 위한 임의적인 오퍼레이터 서열, 적합한 mRNA 리보솜 결합 부위를 인코딩하는 서열, 및 전사 및 번역의 종결을 제어하는 서열을 포함한다. 벡터는 플라스미드, 파지 입자, 바이러스 또는 단순히 잠재적인 게놈 삽입물일 수 있다. 일단 적합한 숙주로 형질전환되면, 벡터는 숙주 게놈과 독립적으로 복제 및 기능할 수 있거나, 일부 경우에 게놈 자체 내로 통합되거나 벡터 서열 없이 벡터에 함유된 폴리뉴클레오티드를 게놈으로 전달할 수 있다. 본 명세서에서, "플라스미드", "발현 플라스미드", "바이러스" 및 "벡터"는 종종 상호교환적으로 사용된다.

[0044] 핵산 분자를 세포 내로 삽입하는 맥락에서 용어 "도입된"은 "형질주입", "형질전환" 또는 "형질도입"을 의미하고, 핵산 분자의 진행 또는 원핵 세포로의 혼입에 대한 언급을 포함하며, 여기서 핵산 분자는 세포의 게놈 (예컨대, 염색체, 플라스미드, 색소체 또는 미토콘드리아 DNA)에 혼입되거나, 자율 레플리콘으로 전환되거나, 일시적으로 발현될 수 있다 (예컨대, 형질주입된 mRNA).

[0045] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드는 벡터의 특정 요소에 작동적으로 연결될 수 있다. 예를 들어, 이들이 결합된 코딩 서열의 발현 및 가공에 영향을 미치기 위해 필요한 폴리뉴클레오티드 서열은 작동적으로 연결될 수 있다. 발현 제어 서열은 적절한 전사 개시, 종결, 프로모터 및 인핸서 서열; 효율적인 RNA 가공 신호, 예컨대, 스플라이싱 및 폴리아데닐화 신호; 세포질 mRNA를 안정화시키는 서열; 번역 효율을 향상시키는 서열 (예컨대, Kozak 컨센서스 서열); 단백질 안정성을 향상시키는 서열; 및 아마도 단백질 분비를 향상시키는 서열을 포함할 수 있다. 발현 제어 서열은 관심 유전자 및 관심 유전자를 제어하기 위해 트랜스로 또는 거리를 두고 작용하는 발현 제어 서열과 근접하는 경우 작동적으로 연결될 수 있다.

[0046] 특정 실시양태에서, 벡터는 플라스미드 벡터 또는 바이러스 벡터 (예컨대, 렌티바이러스 벡터 또는 γ -레트로바이러스 벡터)를 포함한다. 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 아데노바이러스, 파코바이러스 (예컨대, 아데노-연관된 바이러스), 코로나바이러스, 음성 가닥 RNA 바이러스, 예컨대, 오르토-믹소바이러스 (예컨대, 인플루엔자 바이러스), 람다바이러스 (예컨대, 광견병 및 수포성 구내염 바이러스), 파라믹소바이러스 (예컨대, 홍역 및 센다이), 양성 가닥 RNA 바이러스, 예컨대, 피코르나바이러스 및 알파바이러스, 및 아데노바이러스, 헤르페스바이러스 (예컨대, 단순 헤르페스 바이러스 유형 1 및 2, 엡스타인-바 바이러스, 사이토메갈로바이러스) 및 포스바이러스 (예컨대, 백시니아, 계두 및 카나리아두)를 포함하는 이중-가닥 DNA 바이러스를 포함한다. 다른 바이러스는 예를 들어, 노워크 바이러스, 토가바이러스, 플라비바이러스, 레오바이러스, 파코파바이러스, 헤파드나바이러스 및 간염 바이러스를 포함한다. 레트로바이러스의 예는 조류 백혈병-육종, 포유동물 C-유형, B-유형 바이러스, D 유형 바이러스, HTLV-BLV 그룹, 렌티바이러스, 스푸마바이러스 (Coffin, J. M., *Retroviridae: The viruses and their replication*, In *Fundamental Virology*, Third Edition, B. N. Fields *et al.*, Eds., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996)를 포함한다.

[0047] "레트로바이러스"는 역전사 효소를 사용하여 DNA로 역전사된 다음, 역전사된 DNA가 숙주 세포 게놈에 혼입되는, RNA 게놈을 갖는 바이러스이다. "감마레트로바이러스"는 레트로비리다에과의 속을 지칭한다. 감마레트로바이러스의 예는 마우스 줄기 세포 바이러스, 무린 백혈병 바이러스, 고양이 백혈병 바이러스, 고양이 육종 바이러스

및 조류 세망내피증 바이러스를 포함한다.

- [0048] "렌티바이러스 벡터"는 유전자 전달을 위한 HIV-기반 렌티바이러스 벡터를 포함하며, 이는 통합적이거나 비-통합적일 수 있고, 상대적으로 큰 패키징 용량을 가지며, 다양한 상이한 세포 유형을 형질도입할 수 있다. 렌티바이러스 벡터는 일반적으로 3 개 (패키징, 외피 및 전달) 이상의 플라스미드를 생산자 세포로 일시적으로 형질주입시킨 후에 생성된다. HIV와 마찬가지로, 렌티바이러스 벡터는 세포 표면의 수용체와 바이러스 표면 당단백질의 상호작용을 통해 표적 세포로 진입한다. 진입 시, 바이러스 RNA는 바이러스 역전사 효소 복합체에 의해 매개되는 역전사를 겪는다. 역전사의 산물은 감염된 세포의 DNA로의 바이러스 통합을 위한 기질인 이중-가닥 선형 바이러스 DNA이다.
- [0049] 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 감마레트로바이러스, 예컨대, 몰로니 뮤린 백혈병 바이러스 (MLV)-유래된 벡터일 수 있다. 다른 실시양태에서, 바이러스 벡터는 보다 복잡한 레트로바이러스-유래된 벡터, 예컨대, 렌티바이러스-유래된 벡터일 수 있다. HIV-1-유래된 벡터는 이 범주에 속한다. 다른 예는 HIV-2, FIV, 말 전염성 빈혈 바이러스, SIV 및 메디-비스나 바이러스 (양 렌티바이러스)로부터 유래된 렌티바이러스 벡터를 포함한다. 트랜스젠을 함유하는 바이러스 입자로 포유동물 숙주 세포를 형질도입하기 위해 레트로바이러스 및 렌티바이러스 바이러스 벡터 및 패키징 세포를 사용하는 방법은 당업계에 알려져 있고, 예를 들어, 미국 특허 8,119,772; Walchli *et al.*, *PLoS One* 6:327930, 2011; Zhao *et al.*, *J. Immunol.* 174:4415, 2005; Engels *et al.*, *Hum. Gene Ther.* 14:1155, 2003; Frecha *et al.*, *Mol. Ther.* 18:1748, 2010; and Verhoeven *et al.*, *Methods Mol. Biol.* 506:97, 2009에 이전에 설명되어 있다. 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 작제물 및 발현 시스템이 또한 상업적으로 이용가능하다. 예를 들어, 아데노바이러스-기반 벡터 및 아데노-연관된 바이러스 (AAV)-기반 벡터를 포함하는 DNA 바이러스 벡터; 앰플리콘 벡터, 복제-결합 HSV 및 약독화된 HSV를 포함하는 단순 헤르페스 바이러스 (HSV)로부터 유래된 벡터를 비롯한 다른 바이러스 벡터가 또한 폴리뉴클레오티드 전달에 사용될 수 있다 (Krisky *et al.*, *Gene Ther.* 5:1517, 1998).
- [0050] 본 개시내용의 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있는 다른 벡터는 배콜로바이러스 및 α -바이러스로부터 유래된 것들 (Jolly, D J. 1999. Emerging Viral Vectors. pp 209-40 in Friedmann T. ed. The Development of Human Gene Therapy. New York: Cold Spring Harbor Lab), 또는 플라스미드 벡터 (예컨대, 슬리핑 뷰티 또는 기타 트랜스포존 벡터)를 포함한다.
- [0051] 바이러스 벡터 게놈이 별개의 전사물로서 숙주 세포에서 발현될 복수의 폴리뉴클레오티드를 포함할 때, 바이러스 벡터는 또한 바이시스트론 또는 멀티시스트론 발현을 가능하게 하는 2 개 (또는 그 초과)의 전사물 사이에 추가적인 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터에 사용되는 이러한 서열의 예는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES), 퓨린 절단 부위, 바이러스 2A 펩티드 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0052] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "숙주"는 관심 폴리펩티드 (예컨대, 본 개시내용의 항체)를 생산하기 위해 이중핵산 분자를 이용한 유전적 변형을 표적화하는 세포 또는 미생물을 지칭한다.
- [0053] 숙주 세포는 벡터 또는 핵산의 혼입을 수용하거나 단백질을 발현할 수 있는 임의의 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함할 수 있다. 용어는 또한 유전적으로 또는 표현형적으로 동일하거나 상이한 숙주 세포의 자손을 포함한다. 적합한 숙주 세포는 벡터에 좌우될 수 있고, 포유동물 세포, 동물 세포, 인간 세포, 시미안 세포, 곤충 세포, 효모 세포 및 박테리아 세포를 포함할 수 있다. 이들 세포는 바이러스 벡터, 칼슘 포스페이트 침전을 통한 형질전환, DEAE-덱스트란, 전기천공, 미세주사 또는 기타 방법을 사용하여 벡터 또는 다른 물질을 혼입하도록 유도될 수 있다. 예를 들어, Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2d ed. (Cold Spring Harbor Laboratory, 1989) 참고.
- [0054] 본원에 사용된 바와 같이, "항원" 또는 "Ag"는 면역 반응을 유발하는 면역원성 분자를 지칭한다. 이 면역 반응은 항체 생산, 특이적인 면역학적-적격 세포의 활성화, 보체의 활성화, 항체 의존적 세포독성 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 항원 (면역원성 분자)은 예를 들어, 펩티드, 당펩티드, 폴리펩티드, 당폴리펩티드, 폴리뉴클레오티드, 다당류 또는 지질 등일 수 있다. 항원이 합성되거나, 재조합적으로 생산되거나, 생물학적 샘플로부터 유래될 수 있다는 것은 용이하게 명백하다. 하나 이상의 항원을 함유할 수 있는 예시적인 생물학적 샘플은 조직 샘플, 대변 샘플, 세포, 생물학적 체액 또는 이들의 조합을 포함한다. 항원은 항원을 발현하도록 변형되거나 유전자 조작된 세포에 의해 생산될 수 있다.
- [0055] 용어 "에피토프" 또는 "항원성 에피토프"는 면역글로불린 또는 다른 결합 분자, 도메인 또는 단백질과 같은 동족 결합 분자에 의해 인식되고 특이적으로 결합되는 임의의 분자, 구조, 아미노산 서열 또는 단백질 결정기를

포함한다. 에피토프 결정기는 일반적으로 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹화를 함유하고, 특이적 전하 특질뿐만 아니라 특이적 3 차원 구조적 특질을 가질 수 있다. 항원이 펩티드 또는 단백질 이거나 이를 포함하는 경우, 에피토프는 연속적인 아미노산 (예컨대, 선형 에피토프)을 포함할 수 있거나, 단백질 폴딩 (예컨대, 불연속 또는 입체형태적 에피토프)에 의해 근접하게 되는 단백질의 상이한 부분 또는 영역으로부터의 아미노산, 또는 단백질 폴딩과 관계없이 매우 근접한 비-연속 아미노산을 포함할 수 있다.

[0056] 용어 "항원-결합 부위" 또는 "항원 결합 모이어티"는 본원에서 상호교환적으로 사용되며, 항원 및/또는 에피토프에 대한 결합에 참여하는 항체 및/또는 면역글로불린 분자의 일부를 지칭한다. 인간 항체에서, 항원 결합 부위는 중쇄 ("H") 및 경쇄 ("L")의 N-말단 가변 ("V") 영역의 아미노산 잔기에 의해 형성된다. "초가변 영역"은 "프레임워크 영역" ("FR") 사이에 개재된 중쇄 및 경쇄의 V 영역 내의 3 개의 고도로 분기된 스트레치이며, 이는 상대적으로 보존된 측점 스트레치이다. 용어 "FR"은 면역글로불린에서 초가변 영역 사이에 그리고 이에 인접하여 자연적으로 발견되는 아미노산 서열을 지칭한다. 인간 항체 분자에서, 경쇄의 3 개의 초가변 영역 및 중쇄의 3 개의 초가변 영역이 3-차원 공간에서 서로 상대적으로 배치되어, 항원-결합 표면을 형성한다. 항원-결합 표면은 결합된 항원의 3-차원 표면과 상보적이다. 중쇄 ("H") 및 경쇄 ("L") 각각의 3 개의 초가변 영역은 "상보성-결정 영역" 또는 "CDR"로서 지칭된다. 항원-결합 부위는 단일 폴리펩티드의 경쇄 가변 도메인에 중쇄 가변 도메인을 연결하는 펩티드 링커를 사용하여 온전한 항체, 항원-결합 표면을 보유하는 항체의 항원-결합 단편 또는 재조합 폴리펩티드, 예컨대, scFv에 존재할 수 있다. 항원 결합 부위는 항체 경쇄 가변 영역 (VL) 및 항체 중쇄 가변 영역 (VH)을 포함할 수 있다.

[0057] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는 비제한적으로 단클론 항체, 다클론 항체, 다중특이적 항체 (예컨대, 이중특이적 항체, 이기능적 항체), 항체 융합 단백질, 조작된 단백질에서 이중이합체에 대한 항체 및 원하는 항원-결합 활성을 나타내는 한 단편 항체를 포함하는 다양한 항체 구조를 포함한다.

[0058] "항체 단편"은 온전한 항체가 결합하는 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 포함하는 온전한 항체 이외의 폴리펩티드 또는 단백질을 지칭한다. 항체 단편의 예는 Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; 디아바디; 선형 항체; 단일-쇄 항체 분자 (예컨대, scFv); 및 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0059] CDR 및 프레임워크 영역의 넘버링은 임의의 알려진 방법 또는 방식, 예컨대, Kabat, Chothia, EU, IMGT 및 Aho 넘버링 방식에 따를 수 있다 (예컨대, Kabat *et al.*, "Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health, 1991, 5th ed.;" Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)); Lefranc *et al.*, *Dev. Comp. Immunol.* 27:55, 2003; Honegger and Plückthun, *J. Mol. Bio.* 309:657-670 (2001) 참고). 동등한 잔기 위치에 주석을 달 수 있으며, 항원 수용체 넘버링 및 수용체 분류 (ANARCI) 소프트웨어 도구 (2016, Bioinformatics 15:298-300)를 사용하여 상이한 분자를 비교할 수 있다. 항원-결합 부위의 CDR은 알려진 방법, 예컨대, 위에 기재된 바와 같은 Kabat, Chothia, EU, IMGT 및 Aho에 따라 결정될 수 있다. 이러한 정의 하에서 결정된 CDR은 전형적으로 서로에 대해 비교할 때 아미노산 잔기의 중첩 또는 서브세트를 포함한다. 항체의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR은 상이한 넘버링 규칙을 사용하여 정의될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 중쇄 CDR은 위의 Chothia에 따라 정의되고, 경쇄 CDR은 위의 Kabat에 따라 정의된다. CDRH1, CDRH2 및 CDRH3은 중쇄 CDR을 나타내고, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 경쇄 CDR을 나타낸다.

[0060] 본원에 사용된 바와 같이, PD-L1 (인간에서의 "프로그램밍 사멸-리간드 1" 또는 CD274로서 또한 알려짐)은 UniProt 수탁 번호 Q0GN75 (인간)의 단백질 및 관련된 아이소폼 및 오르토로그를 지칭한다.

[0061] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "치환" 또는 "잔기 치환"은 천연 또는 야생형 잔기를 상이한 잔기로 대체하는 것을 지칭한다.

[0062] "친화도"는 분자 (예컨대, 리간드, 항체, scFv)의 단일 결합 부위 및 이의 결합 파트너 (예컨대, 수용체, 항원, 에피토프) 사이의 비-공유 상호작용의 총합의 강도를 지칭한다. 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 바와 같이, "결합 친화도"는 결합 쌍의 구성원 (예컨대, 수용체 및 리간드) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내재 결합 친화도를 지칭한다. 이의 파트너 Y에 대한 분자-X의 친화도는 일반적으로, 해리 상수 (K_D)로 표현될 수 있으며, 이는 해리 및 결합 속도 상수 (각각 k_{off} 및 k_{on})의 비이다. 따라서, 속도 상수의 비가 동일하게 유지되는 한, 동등한 친화도는 상이한 속도 상수를 포함할 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것들을 포함하여 당업자에 의해 알

려진 방법에 의해 측정될 수 있다.

- [0063] 본원에 사용된 바와 같이, "Fc 도메인" 또는 "Fc 영역"은 불변 영역의 적어도 일부를 함유하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역으로부터 유래된 폴리펩티드를 지칭한다. 이 용어는 천연 서열 Fc 영역 또는 이들의 변이체를 갖는 폴리펩티드를 포함한다. IgG 중쇄의 Fc 영역의 경계가 약간 다를 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 Cys226 또는 Pro230으로부터 중쇄의 카복실-말단까지 연장되는 것으로 정의된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 리신 (Lys447)은 존재할 수 있거나 존재하지 않을 수 있다. Fc 영역의 예는 미국 특허 번호 7,317,091; 미국 특허 번호 8,735,545; 미국 특허 번호 7,371,826; 미국 특허 번호 7,670,600; 및 US 9,803,023에 개시되어 있으며; 이들 모두는 그 전체가 참조로 인용된다.
- [0064] "면역글로불린"은 항체의 구조를 갖는 단백질을 지칭한다. 예로서, IgG 부류의 면역글로불린은 하나 이상의 디설파이드-결합에 의해 접합된 2 개의 경쇄 및 2 개의 중쇄를 갖는 이종사합체 당단백질이다. N-말단으로부터 C-말단까지, 각각의 중쇄는 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인이라고 또한 불리는 가변 영역 (VH)을 가지며, 그 뒤에 중쇄 불변 영역이라고 또한 불리는 3 개의 불변 도메인 (CH1, CH2 및 CH3)이 뒤따른다. 유사하게, N-말단으로부터 C-말단까지, 경쇄 각각은 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인이라고 또한 불리는 가변 영역 (VL)을 가지며, 그 뒤에 경쇄 불변 영역이라고 또한 불리는 불변 경쇄 (CL) 도메인이 뒤따른다. 면역글로불린의 중쇄는 α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG) 또는 μ (IgM)라고 불리는 5 개의 부류 중 하나로 배정될 수 있으며, 이 중 일부는 서브클래스, 예컨대, $\gamma 1$ (IgG1), $\gamma 2$ (IgG2), $\gamma 3$ (IgG3), $\gamma 4$ (IgG4), $\alpha 1$ (IgA1) 및 $\alpha 2$ (IgA2)로 추가로 나뉘질 수 있다. 면역글로불린의 경쇄는 불변 도메인의 서열에 기반하여, 카파 (κ) 및 람다 (λ)라고 불리는, 2 개의 유형 중 하나로 배정될 수 있다. 면역글로불린은 면역글로불린 힌지 영역을 통해 연결된 2 개의 Fab 분자 및 Fc 도메인을 포함한다.
- [0065] "Fab 분자" 또는 "항원 결합 단편"은 경쇄의 가변 도메인 및 불변 도메인, 및 중쇄의 가변 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는 항체의 항원-결합 단편이다.
- [0066] "단일 쇄 가변 도메인" 또는 "scFv"는 링커 펩티드에 의해 연결된 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 포함하는 항원-결합 모이어티를 지칭한다.
- [0067] "이중특이적 항체", "이기능적 단백질" 및 "이기능적 항체"는 본 개시내용 전반에 걸쳐 상호교환적으로 사용되며, 2 개의 상이한 항원-결합 부위를 갖는 인공 항체 및/또는 하나 이상의 항원-결합 부위 및 하나 이상의 기능적 도메인을 포함하는 항체-융합 단백질을 지칭한다. 이중특이적 항체는 2 개의 상이한 항원-결합 부위를 갖는 완전한 면역글로불린 단백질을 지칭할 수 있거나, 2 개의 항원 결합 모이어티를 갖는 다른 분자, 예컨대, 2 개의 Fab 또는 2 개의 scFv를 포함하는 융합 단백질을 지칭할 수 있다. 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질 및/또는 이기능적 항체는 하나 이상의 기능적 도메인을 포함하는 단백질, 융합 단백질 및/또는 이종이합체 단백질 쌍을 지칭할 수 있다. 기능적 도메인의 예는 항원-결합 부위, 항체 단편 (예컨대, Fab, scFv 등), 항체 중쇄 및 경쇄, 사이토카인 (예컨대, IL-2, IL-15)을 포함한다. 이기능적 단백질 또는 이기능적 항체는 비-항체 폴리펩티드, 예컨대, 사이토카인에 대한 융합을 포함하는 항체를 지칭할 수 있다. 예를 들어, 이기능적 단백질은 항체 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있으며, 여기서 중쇄 불변 영역은 IL-2, 조작된 IL-2, IL-15, 조작된 IL-15, IL-15 수용체 또는 조작된 IL-15 수용체, 또는 이의 기능 단편에 융합된다. 게다가, 이기능적 단백질은 항체 중쇄 및 경쇄를 포함할 수 있으며, 여기서 중쇄 불변 영역은 항원 결합 부위를 포함하지 않는 폴리펩티드 또는 단백질과 이종이합체를 형성할 수 있다. 예를 들어, 이기능적 단백질은 중쇄, 경쇄, 및 항체 중쇄의 Fc 도메인과 이종이합체를 형성할 수 있는 항체 Fc 도메인을 포함하는 IL-2 또는 조작된 IL-2 융합 단백질을 포함할 수 있다.
- [0068] "면역 반응을 조정하는"은 T 이펙터 세포 반응 (예컨대, 종양 세포 및 바이러스 감염된 세포에 대한 세포독성)의 증가, B 세포 활성화의 증가, 림프구 활성화 및 증식의 복원, IL-2 수용체의 발현의 증가, T 세포 반응성의 증가, 자연 살해 세포 활성화 또는 림프카인-활성화된 살해 (LAK) 세포 활성화의 증가 및 다른 T 세포에 대한 조절 T 세포 반응의 감소 등 중 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0069] "치료", "치료하는" 또는 "호전시키는"은 대상체 (예컨대, 환자)의 병태, 질환 또는 장애의 의학적 관리를 지칭하며, 이는 치료적일 수 있거나, 하나 이상의 증상의 감소를 초래할 수 있거나, 종양 크기 및/또는 중증도의 감소를 초래할 수 있거나, 종양의 측정가능한 성장 또는 증상의 발병을 억제할 수 있거나, 이들의 임의의 조합일 수 있다.
- [0070] "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 생리학적 변화, 예컨대, 면역 조정 및/또는 항-암 효과를 제공하는 치료제의 양을 지칭할 수 있다. 원하는 생리학적 변화는, 예를 들어, 질환의 증상의 감소 또는 질환의 중증도 감

소일 수 있거나, 질환의 진행의 감소일 수 있다. 암과 관련하여, 원하는 생리학적 변화는 예를 들어, 종양 퇴행, 종양 진행의 속도 감소, 암 바이오마커의 수준 감소, 암과 연관된 증상 감소, 전이의 예방 또는 지연, 또는 임상적 관해를 포함할 수 있다.

[0071] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "억제하다"는 명시된 활성 (예컨대, 면역 억압 또는 종양 성장)의 감소를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 활성이 본원에 개시되거나 당업계에 알려진 방법에 의해 측정된 바와 같이 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 98%, 99% 이상 또는 100% 감소되는 경우, 활성은 억제된 것으로 간주될 수 있다.

[0072] "암 항원"은 암 세포에 의해 우선적으로 발현되는 분자를 지칭한다. 암 항원의 예는 CD19, CD20, ROR1, 섬유아 세포 활성화 단백질- α 및 암배아 항원 (CEA)을 포함한다.

[0073] "종양 미세환경 억제제"는 종양 성장을 촉진하고 종양 주변의 국소 환경에 존재하는 하나 이상의 조건 또는 세포 유형을 억제하는 약제를 지칭한다. 예를 들어, 베바시주맵은 종양 미세환경에서 혈관신생을 감소시킴으로써 종양 미세환경을 억제할 수 있다.

[0074] 본 개시내용에 사용된 재조합 DNA, 분자 클로닝 및 유전자 발현 기술은 당업계에 알려져 있고, 참고문헌, 예컨대, Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 2001, 및 Ausubel *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Baltimore, MD, 1999에 기재되어 있다.

[0075] 추가적인 정의는 본 개시내용 전반에 걸쳐 제공된다.

[0076] PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위

[0077] 일 양태에서, 본 출원은 PD-L1 (예컨대, 인간 PD-L1)에 결합하는 항원-결합 부위를 제공한다. CDR, VH, VL 및 scFv 서열과 같은 항원 결합 부위에서 사용되거나 이로서 사용될 수 있는 예시 서열은 표 1에 나열되어 있다. 아미노산 위치 및 CDR 서열은 IMGT 넘버링 방식에 따라 식별된다.

[0078] 표 1: PD-L1에 결합하는 예시적인 항원-결합 부위의 서열

PD-L1 바인더	중쇄 가변 도메인	경쇄 가변 도메인
2018EP164- F04	<p>QVQLQQWAGALLKPSETLSLTCAVY GGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEI NHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARGRRLRYF DWAAYNWFDPWGQGLVTVSS (서열번호 1)</p> <p>CDR1: <u>G</u>SFSGYYWS (서열번호 3) CDR2: <u>W</u>IGENHSGSTNY (서열번호 4) CDR3: <u>R</u>GRRLRYFDWAAYNWFDP (서열번호 5)</p>	<p>QSALTQDPAVSVALGQTVRITCQG DSLRSHYASWYQQKPGQAPYVVV YDNSDRPSGIPDRFSGSNSGNTATL TISRVEVGDEADYYCQVWDSSSDH YVFGTGTKV (서열번호 2)</p> <p>CDR1: <u>S</u>LRSHYAS (서열번호 6) CDR2: <u>V</u>VVVYDNSDRPS (서열번호 7) CDR3: <u>Q</u>VWDSSSDHY (서열번호 8)</p>
2018EP170- E06	<p>EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDSRWG PAPHAFDIWGQGTMTVTVSS (서열번호 9)</p> <p>CDR1: <u>G</u>TFSSYAIS (서열번호 11) CDR2: <u>W</u>MGGIPIFGTANY (서열번호 12) CDR3: <u>R</u>DSRWGPAPHAFDI (서열번호 13)</p>	<p>QQSVLTQPASVSGSPGQSITISCTGT SSDIGSYNLVSWYQNHPGKAPKLL YEITKRPSGVSSRFSGSKSGNAASLT ISGLQAEDEAEYFCSYAGLSVFFV FGGGTKL (서열번호 10)</p> <p>CDR1: <u>S</u>SDIGSYNLVS (서열번호 14) CDR2: <u>L</u>ILYEITKRPS (서열번호 15) CDR3: <u>C</u>SYAGLSVFF (서열번호 16)</p>
2018EP161- G08	<p>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAGSW YPWYFDYWGQGLVTVSS (서열번호 17)</p> <p>CDR1: <u>F</u>TFSSYAMS (서열번호 19) CDR2: <u>W</u>VSAISGSGGSTYY (서열번호 20) CDR3: <u>K</u>AGSWYPWYFDY (서열번호 21)</p>	<p>VIWMTQSPSSLSASLGDRVITITCRA SQSVSTYINWYQQKSGKGPKLLIFN ASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTIT SLQPDDSATYYCQQSYRVPLSFGGG TKVEIR (서열번호 18)</p> <p>CDR1: <u>Q</u>SVSTYIN (서열번호 22) CDR2: <u>L</u>LIFNASTLQS (서열번호 23) CDR3: <u>Q</u>QSYRVPL (서열번호 24)</p>
2018EP161- F08	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIS GSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKAGSW YPYYFDYWGQGLVTVSS (서열번호 25)</p> <p>CDR1: <u>F</u>TFSSYAMS (서열번호 19) CDR2: <u>W</u>VSAISGSGGSTYY (서열번호 20) CDR3: <u>K</u>AGSWPYYYFDY (서열번호 27)</p>	<p>DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRAS QTVSTYINWYQQRSGKGPKLLIFDA SRLQSGAPSRFSGSGSGTEFTLTITSL QPDDSATYYCQQSYRIPLSFGGGTK VEIR (서열번호 26)</p> <p>CDR1: <u>Q</u>TVSTYIN (서열번호 28) CDR2: <u>L</u>LIFDASRLQS (서열번호 29) CDR3: <u>Q</u>QSYRIPLS (서열번호 30)</p>
2018EP161-	QMQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVS	NFMLTQPSSLSASPGASASLTCTLPS

[0079]

F04	<p>GYTFIDYYMHVWVQQAPGKGLEWMG LVDPEGETIYAEKFQGRVTITADTST DTAYMELSSLRSEDTAVFYCATDGS SYYLTLGQGTLTVTVSS (서열번호 31)</p> <p>CDR1: <u>YTFIDYYMH</u> (서열번호 33) CDR2: <u>WMGLVDPEDGETIYA</u> (서열번호 34) CDR3: <u>TDGSGSYYLTL</u> (서열번호 35)</p>	<p>GINVGPYGIFWYQKPGSPQYLLR <u>YKSNSENHQSG</u>GVPSRFGSEDASA NVGILLISGLQSEDEADYYCMWHS SAWVFGGGTKVTVL (서열번호 32)</p> <p>CDR1: <u>SGINVGPYGI</u> (서열번호 36) CDR2: <u>QYLLRYKSNSENHQGS</u> (서열번호 37) CDR3: <u>MIWHSSAWV</u> (서열번호 38)</p>
2018EP280- E04	<p>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVY GGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE <u>I</u>NHIGSTNYNPSLKSRTISVDTSNNQF SLKLSSVTAADTAVYYCARGRRLRYF <u>D</u>WAAYNWFDPWGQGTLTVTVSS (서열번호 39)</p> <p>CDR1: <u>GSFSGYYWS</u> (서열번호 3) CDR2: <u>WIGENHIGSTNY</u> (서열번호 41) CDR3: <u>RGRRLRYFDWAAYNWFDP</u> (서열번호 5)</p>	<p>QSALTQDPAVSVALGQTVRISCQGD <u>SLRSHYASWYQKPGQAPVVVVY</u> <u>DNSDRPSGIPDRFSGSNSGNTATLTI</u> SRVEVGDEADYYCQVWDSSSDHY VFGTGTKVTVL (서열번호 40)</p> <p>CDR1: <u>SLRSHYAS</u> (서열번호 6) CDR2: <u>VVVYDNSDRPS</u> (서열번호 42) CDR3: <u>QVWDSSSDHYV</u> (서열번호 43)</p>
2018EP171- H02	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG <u>IPIFGTANY</u>AQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDKGYG <u>SGWRGDY</u>WGQGTLTVTVSS (서열번호 44)</p> <p>CDR1: <u>GTFSSYAIS</u> (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKGYGSGWRGDY</u> (서열번호 46)</p>	<p>QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSY <u>SNIGSNFVN</u>WYQQLPGTAPKLLIHF <u>NNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS</u> GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFG GGTKLTVL (서열번호 45)</p> <p>CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFNQRPS</u> (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)</p>
2018EP173- H11	<p>QVQLVQSGGGLVKPGGSLRLSCAAS GTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSI SSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKN LYLQMNSLKAEDTAVYYCARDSLQW <u>LALDY</u>WGQGTLTVTVSS (서열번호 50)</p> <p>CDR1: <u>FTFSSYSMN</u> (서열번호 52) CDR2: <u>WVSSSSSSSYIY</u> (서열번호 53) CDR3: <u>RDSLQWLALDY</u> (서열번호 54)</p>	<p>QPVLTQPPSVSVAPGETATITCGGN <u>NIGRKSVHWYLQKPGQAPVLVIGH</u> <u>DTDRPSGIPARFSGSNSGNTATLTIN</u> RVEAGDEADYYCQVWDTSGHHYV FGTGTKVTVL (서열번호 51)</p> <p>CDR1: <u>NIGRKSVH</u> (서열번호 55) CDR2: <u>LVIGHDTDRPS</u> (서열번호 56) CDR3: <u>QVWDTSGHHY</u> (서열번호 57)</p>
2018EP172- F10	<p>QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG <u>IPIFGTANY</u>AQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDKGYG <u>SGWRGDY</u>WGQGTLTVTVSS (서열번호 58)</p> <p>CDR1: <u>GTFSSYAIS</u> (서열번호 11)</p>	<p>QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSY <u>SNIGSNFVN</u>WYQQLPGTAPKLLIHF <u>DNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS</u> GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFG GGTKLTVL (서열번호 59)</p> <p>CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFDNQRPS</u> (서열번호 60)</p>

[0080]

	CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKGYGSGWRGDY</u> (서열번호 46)	CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2018EP280-E01	EVQLVESGGGLV KPGGSLRL SCAASG <u>LTF</u> SN AWMS WVRQAPGKGLEWVGR <u>I</u> KSKTDGGTTEYAAPVKGRFTISRDDS KNTLYLQMSSSLKTEDTAVYYCTIVYY <u>YDSSGPVFFQH</u> WGQGLTVTVSS (서열번호 61) CDR1: <u>LTF</u> SN AWMS (서열번호 63) CDR2: <u>WVGR</u> IKSKTDGGTTEY (서열번호 64) CDR3: <u>IVYY</u> YDSSGPVFFQH (서열번호 65)	QSVLTQPPSASATPGQRTVISC SGSD SNIATNYVY WYQQFPGTAPKLLI YR <u>NHQRPS</u> GVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLRSEDEADYYCATWDDSVNSWV FGGGTKLTVL (서열번호 62) CDR1: <u>DS</u> NIATNYVY (서열번호 66) CDR2: <u>LLIYR</u> NHQRPS (서열번호 67) CDR3: <u>ATWDDSVNSW</u> (서열번호 68)
2019EP69-E02	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG <u>IPIFGTANY</u> AQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARNKGYV <u>SGWRSDY</u> WGQGLTVTVSS (서열번호 69) CDR1: <u>GT</u> FS SYAIS (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RNKGYVSGWRSDY</u> (서열번호 71)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISC SGSY <u>SNIGSNFVN</u> WYQQLPGTAPKLLI HF <u>NNQRPS</u> GVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGP IFG GGTKLTVL (서열번호 70) CDR1: <u>YS</u> NIGSNFVN (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFN</u> QRPS (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2019EP69-E10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG <u>IPIFGTANY</u> AQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDKGF <u>SGWRGDY</u> WGQGLTVTVSS (서열번호 72) CDR1: <u>GT</u> FS SYAIS (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKGFGSGWRGDY</u> (서열번호 74)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISC SGSY <u>SNIGSNFVN</u> WYQQLPGTAPKLLI HF <u>NNQRPS</u> GVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGP IFG GGTKLTVL (서열번호 73) CDR1: <u>YS</u> NIGSNFVN (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFN</u> QRPS (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2019EP69-C05	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKAS GGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG <u>IPIFGTANY</u> AQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARDKGYG <u>SGFRGDY</u> WGQGLTVTVSS (서열번호 75) CDR1: <u>GT</u> FS SYAIS (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12)	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISC SGSY <u>SNIGSNFVN</u> WYQQLPGTAPKLLI HF <u>NNQRPS</u> GVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGP IFG GGTKLTVL (서열번호 76) CDR1: <u>YS</u> NIGSNFVN (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFN</u> QRPS (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)

[0081]

	CDR3: <u>RDKGYGSGFRGDY</u> (서열번호 77)	
2019EP69-F02	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS GGT <u>FSSYAIS</u> WVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMESSLRSED TAVYYC <u>ARDKWYG</u> SGWRGDYWGQGLTVTVSS (서열번호 78) CDR1: <u>GTFFSSYAIS</u> (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKWYGSGWRGDY</u> (서열번호 80)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSY SNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHF NNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFG GGTKLTVL (서열번호 79) CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFNNQRPS</u> (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2019EP69-B01	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS GGT <u>FSSYAIS</u> WVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMESSLRSED TAVYYC <u>ARRIRIGT</u> GWRGDYWGQGLTVTVSS (서열번호 81) CDR1: <u>GTFFSSYAIS</u> (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>ARRIRIGTGWRGDY</u> (서열번호 83)	SVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSY NIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHF NNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS LQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFGG GTKLTVL (서열번호 82) CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFNNQRPS</u> (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2019EP69-H10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS GGT <u>FSSYAIS</u> WVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMESSLRSED TAVYYC <u>ARDKWFG</u> SGWRGDYWGQGLTVTVSS (서열번호 84) CDR1: <u>GTFFSSYAIS</u> (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKWFGSGWRGDY</u> (서열번호 86)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSY SNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHF NNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFG GGTKLTVL (서열번호 85) CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFNNQRPS</u> (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)
2019EP69-F03	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCAS GGT <u>FSSYAIS</u> WVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMESSLRSED TAVYYC <u>ARDKWYG</u> SAWRGDYWGQGLTVTVSS (서열번호 87) CDR1: <u>GTFFSSYAIS</u> (서열번호 11) CDR2: <u>WMGGIPIFGTANY</u> (서열번호 12) CDR3: <u>RDKWYGSAWRGDY</u> (서열번호 89)	QSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSY SNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHF NNQRPSGVPDRFSGSRSGTSASLAIS GLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFG GGTKLTVL (서열번호 88) CDR1: <u>YSNIGSNFVN</u> (서열번호 47) CDR2: <u>LLIHFNNQRPS</u> (서열번호 48) CDR3: <u>STWDDSLKGP</u> (서열번호 49)

[0082]

[0083]

특정 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 서열번호 11, 3, 19, 33, 52 또는 63의 상보성-결정 영역 1 (CDR1) 서열; 서열번호 12, 4, 20, 34, 41, 53 또는 64의 상보성-결정 영역 2 (CDR2) 서열; 및 서열번호 89, 5, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83 또는 86의 상보성-결정 영역 3 (CDR3) 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH); 및 서열번호 47, 6, 14, 22, 28, 36, 55 또는 66의 CDR1 서열; 서열번호 48, 7, 15, 23, 29, 37, 42, 56, 60 또는 67의 CDR2 서열; 및 서열번호 49, 8, 16, 24, 30, 38, 43, 57 또는 68의 CDR3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다.

[0084]

특정 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 표 1에 개시된 바와 같은 항체의 VH와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄 가변 도메인 (VH), 및 표 1에 개시된 바와 같은 동일한 항체의 VL과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 IMGT 시스템, EU 시스템, Kabat 시스템 (Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda 참고), Chothia 시스템 (예컨대, Chothia C

& Lesk A M, (1987), J. Mol. Biol. 196: 901-917 참고), MacCallum (MacCallum R M *et al.*, (1996) J. Mol. Biol. 262: 732-745 참고), 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된 바와 같이 표 1에 개시된 바와 같은 항체의 VH 및 VL 서열의 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 표 1에 개시된 바와 같은 항체의 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다.

[0085] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP164-F04로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 1의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 2와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 1 및 2의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 3, 4 및 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 6, 7 및 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 3, 4 및 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 6, 7 및 8의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0086] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP170-E06으로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 9의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 10과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 9 및 10의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 14, 15 및 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 13의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 14, 15 및 16의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0087] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP161-G08로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 17의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 18과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 17 및 18의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 19, 20 및 21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 22, 23 및 24의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0088] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP161-F08로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 25의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 26과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 25 및 26의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 19, 20 및 27의 아미노산 서열을 포함

하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 19, 20 및 27의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 28, 29 및 30의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0089] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP161-F04로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 31의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 32와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 31 및 32의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 33, 34 및 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 36, 37 및 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 33, 34 및 35의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 36, 37 및 38의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0090] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP280-E04로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 39의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 40과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 39 및 40의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 3, 41 및 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 6, 42 및 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 3, 41 및 5의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 6, 42 및 43의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0091] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP171-H02로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 44의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 45와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 44 및 45의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0092] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP173-H11로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 50의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 51과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 50 및 51의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 52, 53 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 55, 56 및 57의 아미노산 서열을

포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 52, 53 및 54의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 55, 56 및 57의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0093] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP172-F10으로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 58의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 59와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 58 및 59의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 60 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 46의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 60 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0094] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2018EP280-E01로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 61의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 62와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 61 및 62의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 63, 64 및 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 66, 67 및 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 63, 64 및 65의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 66, 67 및 68의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0095] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-E02로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 69의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 70과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 69 및 70의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 71의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0096] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-E10으로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 72의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 73과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 72 및 73의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및

74의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0097] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-C05로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 75의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 76과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 75 및 76의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 77의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0098] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-F02로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 78의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 79와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 78 및 79의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 80의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0099] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-B01로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 81의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 82와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 81 및 82의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 83의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

[0100] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-H10으로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 84의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 85와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 84 및 85의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 86의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아

미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.

- [0101] 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 2019EP69-F03으로부터 유래된다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 본 출원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 87의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 88과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 각각 서열번호 87 및 88의 VH 및 VL 서열의, IMGT, EU, Kabat, Chothia, MacCallum 또는 당업계에 알려진 임의의 다른 CDR 결정 방법 하에서 결정된, 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3, 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11, 12 및 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 각각 서열번호 11, 12 및 89의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0102] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항원-결합 부위는 서열번호 87의 아미노산 서열과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열번호 88과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하고, VH는 서열번호 89와 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5 개 이상의 아미노산 치환을 갖는 서열번호 89의 아미노산 서열 변이체를 포함하는 CDR3을 포함한다. 일부 실시양태에서, VH CDR3은 서열번호 71, 74, 77, 80, 83, 또는 86을 포함하거나, 이로 이루어진다. 특정 실시양태에서, VH는 각각 서열번호 11 및 12의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1 및 CDR2를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, VL은 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 (a) 서열번호 11의 서열을 갖는 CDR1, 서열번호 12의 서열을 갖는 CDR2, 및 서열번호 89와 비교하여 1, 2, 3, 4 또는 5 개 이상의 아미노산 치환을 갖는 서열번호 89의 변이체를 포함하는 CDR3을 포함하는 VH; 및 (b) 각각 서열번호 47, 48 및 49의 아미노산 서열을 포함하는 CDR1, CDR2 및 CDR3을 포함하는 VL을 포함한다.
- [0103] 전술한 실시양태 각각에서, PD-L1에 결합하는 VH 및/또는 VL 서열은 PD-L1에 결합하는 능력에 영향을 미치지 않으면서 VH 및/또는 VL의 프레임워크 영역에서 아미노산 변경 (예컨대, 1, 2, 3, 4, 5 또는 10 개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 첨가)를 함유할 수 있음이 본원에서 고려된다. 예를 들어, PD-L1에 결합하는 (예컨대, scFv에서의) VH 및 VL 서열은 scFv의 VH와 VL 사이의 디설파이드 브릿지의 형성을 용이하게 하는 시스테인 이중이합체화 돌연변이를 함유할 수 있음이 본원에서 고려된다.
- [0104] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 측정된 바와 같이, 약 5 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 0.8 nM 미만, 약 0.6 nM 미만, 약 0.4 nM 미만, 약 0.2 nM 미만, 또는 약 0.1 nM 미만의 KD로 인간 PD-L1에 결합한다.
- [0105] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 효소-연결된 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 측정된 바와 같이, 약 160 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 1.5 nM 미만, 약 1.2 nM 미만, 약 1.0 nM 미만, 약 0.8 nM 미만, 약 0.7 nM 미만, 약 0.6 nM 미만, 약 0.5 nM 미만, 또는 약 0.4 nM 미만의 EC50으로 인간 PD-L1에 결합한다.
- [0106] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 100 nM, 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 45 nM, 40 nM, 35 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM 또는 0.5 nM 이하의 KD 값으로 (이상의 친화도로) 인간 PD-L1 또는 이의 세포외 영역에 결합한다. 특정 실시양태에서, 본 출원의 항원 결합 부위는 5 nM 이하의 KD 값으로 (이상의 친화도로) 인간 PD-L1 또는 이의 세포외 영역에 결합한다. 특정 실시양태에서, 본 출원의 항원-결합 부위는 약 2.0 nM, 2.1 nM, 2.2 nM, 2.3 nM, 2.4 nM, 2.5 nM, 2.6 nM, 2.7 nM, 2.8 nM, 2.9 nM, 3.0 nM, 3.1 nM, 3.2 nM, 3.3 nM, 3.4 nM, 3.5 nM, 3.6 nM, 3.7 nM, 3.8 nM, 3.9 nM, 4.0 nM, 4.1 nM, 4.2 nM, 4.3 nM, 4.4 nM, 4.5 nM, 4.6 nM, 4.7 nM, 4.8 nM, 4.9 nM 또는 5.0 nM 이하의 KD 값으로 (이상의 친화도로) 인간 PD-L1 또는 이의 세포외 영역에 결합한다. 특정 실시양태에서, 본 출원의 항원-결합 부위는 약 1.0-3.5 nM, 1.0-4.0 nM, 1.0-4.5 nM, 1.0-5.0 nM, 1.5-3.5 nM, 1.5-4.0 nM, 1.5-4.5 nM, 1.5-5.0 nM, 2.0-3.5 nM, 2.0-4.0 nM, 2.0-4.5 nM, 2.0-5.0 nM, 2.5-3.5 nM, 2.5-4.0 nM, 2.5-4.5 nM, 2.5-5.0 nM, 3.0-3.5 nM, 3.0-4.0 nM, 3.0-4.5 nM, 또는 3.0-5.0 nM의 범위의 KD 값으로 인간 PD-L1 또는 이의 세포외 영역에 결합한다. 이러한 KD 값은 표준 결합 검정, 예를 들어, SPR 또는 ELISA를 사용하여

측정된 값이다.

- [0107] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 형광-활성화된 세포 분류 (FACS)에 의해 측정된 바와 같이, 약 40 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 8 nM 미만, 약 6 nM 미만, 약 4 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 약 0.5 nM 미만, 약 0.3 nM 미만, 약 0.2 nM 미만, 약 0.1 nM 미만의 EC50으로 인간 PD-L1을 발현하는 세포에 결합한다.
- [0108] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 50 nM, 45 nM, 40 nM, 35 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM 또는 0.5 nM 이하의 EC50 값으로 (이상의 친화도로) 세포막 (예컨대, 세포의 원형질막)의 표면에 제시된 인간 PD-L1에 결합한다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 1 nM 이하의 EC50 값으로 (이상의 친화도로) 막 (예컨대, 세포의 원형질막)의 표면에 제시된 인간 PD-L1에 결합한다. 이러한 EC50 값은 PD-L1을 재조합적으로 또는 내인성으로 발현하는 세포를 사용하는 결합 검정, 예컨대, 아래의 실시예(들)에 개시된 검정에서 측정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 대상체의 체액, 조직 및/또는 세포로부터의 PD-L1에 결합한다.
- [0109] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 PD-L1에 결합하기 위해 PD-1과 경쟁하거나, PD-1에 대한 PD-L1 결합을 억제한다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 단일-쇄 단편 가변 단편 (scFv)으로서 존재한다. 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 항원-결합 단편 (Fab)으로서 존재한다.
- [0110] PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위가 있는 단백질
- [0111] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 인간 PD-L1에 결합하는 본원에 개시된 항원-결합 부위를 포함하는 단백질을 제공한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 단백질은 하나 이상의 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 인간 IgG 중쇄 불변 영역이다. 특정 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 중쇄 불변 영역이다. 특정 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0112] 특정 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 인간 IgG에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, L234A, L235A, P329G, Y349C, S354C, T366S, T366W, L368A, F405K, K409A 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 인간 IgG는 IgG1이다. 일부 실시양태에서, 인간 IgG는 서열번호 90의 서열, 또는 서열번호 90과 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 LALAPG 돌연변이를 포함한다. LALAPG 돌연변이는 인간 IgG 중쇄 불변 영역, 예컨대, IgG1의 CH2-CH3 영역에서 L234A, L235A 및 P329G 변화를 지칭한다 (예컨대, Schlothauer *et al.*, *Protein Engineering, Design & Selection*. 29(10):457-466, 2016; Lo *et al.*, *J. Biol. Chem.* 292(9):3900-3908, 2017을 참고하며, 본원에 참조로 인용됨). 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 좁 돌연변이 또는 홀 돌연변이를 포함한다. 좁-인트루-홀 돌연변이는 각각 좁 및 홀 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인의 이종이합체화를 허용하는 IgG 불변 도메인에 대한 변형이다. 좁 또는 홀 돌연변이는 낮은 수준의 동종이합체 오염물질로 생체외에서 우선적인 이종이합체 형성을 허용한다. 좁-인트루-홀 돌연변이는 Merchant *et al.* *Nat. Biotechnol.* 16:677-681, 1998; 및 Wei *et al.*, *Oncotarget*. 8(31):51037-51049, 2017에 개시되며, 이는 본원에 참조로 인용된다. 좁 돌연변이의 예는 IgG 중쇄 불변 영역에서 S354C, T366W 및 K409A 돌연변이를 포함한다. 홀 돌연변이의 예는 IgG 중쇄 불변 영역에서 Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 LALAPG 돌연변이 및 홀 돌연변이 또는 좁 돌연변이를 포함한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 L234A, L235A, P329G, S354C, T366W 및 K409A 돌연변이를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 L234A, L235A, P329G, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 91 또는 92의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 단백질은 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, S354C, T366W 및 K409A로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제1 항체 중쇄 불변 영역, 및 서열번호 90에 비해, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 단백질은 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, L234A, L235A, P329G, S354C, T366W 및 K409A로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제1 항체 중쇄 불변 영역, 및 서열번호 90에 비해, L234A, L235A, P329G, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0113] 표 2. 예시적인 IgG 서열.

IgG1 WT CH2-CH3	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 90
EP280 IgG1, CH2-CH3, Y349C, T366S, L368A, F405K, Y407V 를 갖는 홀; LALAPG 돌연변이	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 91
IgG1 중; S354C, T366W, K409A 를 가짐; LALAPG 돌연변이	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 92

[0114]

[0115] 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위를 포함하는 단백질은 항체이다. 일부 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다: (a) 서열번호 148과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 중쇄 (HC), 및 서열번호 149와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 경쇄 (LC); (b) 서열번호 150과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 151과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (c) 서열번호 152와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 153과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (d) 서열번호 154와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 155와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (e) 서열번호 156과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 157과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; 또는 (f) 서열번호 159와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 160과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC.

[0116]

일부 실시양태에서, 항체는 다음을 포함한다: (a) 서열번호 148의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 149의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (b) 서열번호 150의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 151의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (c) 서열번호 152의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 153의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (d) 서열번호 154의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 155의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; (e) 서열번호 156의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 157의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC; 또는 (f) 서열번호 159의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 HC, 및 서열번호 160의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 LC.

[0117]

PD-L1 항원-결합 부위를 갖는 예시적인 단백질의 HC 및 LC 서열은 아래 표 3에 나열되어 있다. 아미노산 위치는 IMGT 넘버링 방식에 따라 식별된다.

[0118] 표 3: 항-PD-L1 항체를 형성할 수 있는 HC 및 LC의 서열

EP206 2019EP69-F03-HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGFTSSYAISWVRQA PGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGSARWDYWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTEPVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	서열번호 148
EP205 2019EP69-F03-LC	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPG TAPKLLIHFNQRPGRVDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDE ADYFCSTWDDSLKGPIFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETT KPSKQSNKYYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	서열번호 149
EP480 2018EP164-F04-HC	QVQLQQWAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQP PGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGRRLRYFDWAAYNWFDPWGQGLT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTEPVTCTVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	서열번호 150
EP481 2018EP164-F04-LC	QSALTQDPAVSVALGQTVRITCQDGLSRSHYASWYQQKPG QAPVVVVYDNRPSGIPDRFSGSNSGNTATLTISRVEVGDE ADYYCQVWDSSSDHYVFGTGKVEIRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC	서열번호 151
EP482 2018EP161-G8-HC	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLR AEDTAVYYCAKASGWYPWYFDYWGQGLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTEPVTCTVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	서열번호 152
EP483 2018EP161-G8-LC	VIWMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQSVSTYINWYQQKSG KGPKLLIFNASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTITSLQPDSSA TYYCQQSYRVPLSFGGGTKVEIRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS GTASVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	서열번호 153
EP484 2018EP161-F08-HC	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGGSGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLR AEDTAVYYCAKAGSWYPYFDYWGQGLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTW SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICN VNHPKPSNTKVDKKVEPKSCDKHTCTCPAPELLGGPSVFLF	서열번호 154

[0119]

	PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
EP485 2018EP161-F08-LC	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQTVSTYINWYQQRSG KGPKLLIFDASRLQSGAPSRFSGSGSGTEFTLTITSLQPDSSA TYYCQQSRYRPLSFGGGTKVEIRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC	서열번호 155
EP486 2018EP280-E04-HC	QVQLQQWAGLLKPSETLSLTCVYGGSGFSGYYWSWIRQP PGKGLEWIGIEINHIGSTNYPNLSKSRVTISVDTSNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGRRLRYFDWAAYNWFDPWGQGT LTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK	서열번호 156
EP487 2018EP280-E04-LC	QSALTQDPAVSVALGQTVRISCQGDLSRSHYASWYQKPG QAPVVVVYDNDSDRPSGIPDRFSGSGNSGNTATLTISRVEVGDE ADYYCQVWDSDDHYVFGTGKTVTLGQPKANPTVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVET TKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTV EKTVAPTCS	서열번호 157
EP488 2018EP171-H02-HC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQA PGQGLEWVMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARDKGYGSGWRGDIWQGTILVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK	서열번호 158
EP489 2018EP171-H02-LC	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSYSNIGSNFNWYQQLPG TAPKLLIHFNQRPSPGVDRFSGSRGTSASLAISGLQSEDE ADYFCSTWDDSLKGPFGGGTKLTVLGQPKANPTVTLFPPS SEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETT KPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS	서열번호 159

[0120]

[0121]

일부 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 존재할 수 있다. 항체는 단클론 항체, 키메라 항체, 디아바디, Fab 단편, Fab' 단편 또는 F(ab')₂ 단편, Fv, 이중특이적 항체, 이기능적 항체, 이중특이적 Fab₂, 이중특이적 (mab)₂, 인간화된 항체, 인공적으로 생성된 인간 항체, 이중특이적 T-세포 인게이지, 이중특이적 NK 세포 인게이지, 단일쇄 항체 (예컨대, 단일-쇄 Fv 단편 또는 scFv), 트리오맵, 공통 경쇄를 갖는 낚-인트루-홀 (KiH) IgG, 크로스맵, 오르토-Fab IgG, DVD-Ig, 2 인 1-IgG, IgG-scFv, sdFv₂-Fc, 바이-나노바디, 이중친화도 채표적화 항체 (DART), DART-Fc, scFv-HSA-scFv (여기서 HSA = 인간 혈청 알부민) 또는 도크-앤-락 (DNL)-Fab₃일 수 있다.

[0122]

특정 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 항체 불변 영역, 예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD 또는 IgE의 중쇄 불변 영역; 특히, 예컨대, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4의 (예컨대, 인간) 중쇄 불변 영역으로부터 선택된 항체 불변 영역과 90% 이상 (예컨대, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열에 연결된다. 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 항원-결합 부위는 예컨대, 카파 또는 람다의 (예컨대, 인간) 경쇄 불변 영역으로부터 선택된 경쇄 불변 영역에 연결될 수 있다. 불변 영역은 항체의 특성을 변형시키기 위해 (예컨대, Fc 수용체 결합, 항체 글리코실화, 시스테인 잔기의 수, 이펙터 세포 기능, 및/또는 보체 기능 중 하나 이상을 증가 또는 감소시키기 위해) 변경, 예컨대, 돌연변이 또는 조작될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 이펙터 기능을 갖고, 보체를 고정할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 이펙터 세포를 동원하거나 보체를 고정하지 않는다. 일부 실시양태에서, 항체는 Fc 수용체에 결합하는 능력이 감소되었거나 없다. 예를 들어, 이는 Fc 수용체에 대한 결합을 지지하지 않는 아이소타입 또는 서브타입, 단편 또는 기타 돌연변이체이며, 예컨대, 이는 돌연변이화된 또는 결실된 Fc 수용체 결합 영역을 갖는다.

[0123]

특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 CH1 도메인이 있거나 없는 한지, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG 불변 영역에 연결된다. 일부 실시양태에서, 불변 영역의 아미노산 서열은 인간 항체 불변 영역, 예컨대, 인간 IgG1 불변 영역, 인간 IgG2 불변 영역, 인간 IgG3 불변 영역 또는 인간 IgG4 불변 영역과 90% 이상 (예컨대, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일하다. 일부 실시양태에서, CD16에 결합하기에

충분한 항체 Fc 도메인 또는 이의 일부는 다음의 서열을 포함하는 야생형 인간 IgG1 Fc와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED
PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNAKALPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호 90).

[0124]

[0125]

일부 실시양태에서, 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 인간 IgG1 불변 영역과 비교하여, 하나 이상의 돌연변이가 불변 영역에 혼입될 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, T411D, T411E, K439D 및 K439E를 포함한다.

[0126]

특정 실시양태에서, 항원-결합 부위는 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인의 일부에 연결된다. Fc 도메인 내에서, CD16 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 의해 매개된다. 예를 들어, 인간 IgG1 내에서, CD16과의 상호작용은 주로 아미노산 잔기 Asp 265 - Glu 269, Asn 297 - Thr 299, Ala 327 - Ile 332, Leu 234 - Ser 239 및 CH2 도메인의 탄수화물 잔기 N-아세틸-D-글루코사민에 집중된다 (Sondermann *et al.*, Nature, 406 (6793):267-273 참고). 알려진 도메인에 기반하여, 돌연변이는 파지-디스플레이 라이브러리 또는 효모 표면-디스플레이 cDNA 라이브러리를 사용하는 것과 같이 CD16에 대한 결합 친화도를 향상 또는 감소시키기 위해 선택될 수 있거나, 상호작용의 알려진 3-차원 구조에 기반하여 설계될 수 있다.

[0127]

특정 실시양태에서, 인간 IgG1 불변 영역의 CH1에 혼입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 및/또는 V173에 있을 수 있다. 특정 실시양태에서, 인간 IgG1 불변 영역의 Cκ에 혼입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 E123, F116, S176, V163, S174 및/또는 T164에 있을 수 있다.

[0128]

일부 실시양태에서, 항체 불변 도메인은 IgG 항체, 예를 들어, 인간 IgG1 항체의 CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. 일부 실시양태에서, 돌연변이는 항체 불변 도메인에 도입되어, 다른 항체 불변 도메인과의 이중이합체화를 가능하게 한다. 예를 들어, 항체 불변 도메인이 인간 IgG1의 불변 도메인으로부터 유래되는 경우, 항체 불변 도메인은 인간 IgG1 항체의 아미노산 234-332와 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있고, Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 및 K439로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 상이하다. 본원에 개시된 Fc 도메인 또는 힌지 영역 내의 모든 아미노산 위치는 EU 넘버링에 따라 넘버링된다.

[0129]

일부 다른 실시양태에서, 불변 영역의 아미노산 서열은 다른 포유류, 예컨대, 토끼, 개, 고양이, 마우스 또는 말로부터의 항체 불변 영역과 90% 이상 (예컨대, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상 또는 100%) 동일하다.

[0130]

본원에 기재된 단백질은 당업계에 알려진 재조합 DNA 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 제1 면역글로불린 중쇄를 인코딩하는 제1 핵산 서열은 제1 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있으며; 제2 면역글로불린 중쇄를 인코딩하는 제2 핵산 서열은 제2 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있고; 제1 면역글로불린 경쇄를 인코딩하는 제3 핵산 서열은 제3 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있고; 제2 면역글로불린 경쇄를 인코딩하는 제4 핵산 서열은 제4 발현 벡터 내로 클로닝될 수 있고; 제1, 제2, 제3 및 제4 발현 벡터는 다합체성 단백질을 생산하기 위해 숙주 세포에 함께 안정적으로 형질주입될 수 있다.

[0131]

단백질의 최고 수율을 달성하기 위해, 제1, 제2, 제3 및 제4 발현 벡터의 상이한 비를 탐구하여, 숙주 세포로의 형질주입을 위한 최적의 비를 결정할 수 있다. 형질주입 후, 단일 클론은 당업계에 알려진 방법, 예컨대, 제한된 희석, ELISA, FACS, 현미경을 사용하여 세포 은행 생성을 위해 단리될 수 있다.

- [0132] 클론은 본원에 개시된 항원-결합 부위를 포함하는 단백질의 생물-반응기 확장 및 유지된 발현에 적합한 조건 하에서 배양될 수 있다. 단백질은 원심분리, 침출 여과, 세포 용해, 균질화, 동결-해동, 친화도 정제, 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 교환 크로마토그래피 및 혼합 모드 크로마토그래피를 포함하는 당업계에 알려진 방법을 사용하여 분리 및 정제될 수 있다.
- [0133] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 항체 중 어느 하나의 면역글로불린 중쇄 및/또는 면역글로불린 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 서열을 포함하는 하나 이상의 분리된 핵산을 제공한다. 개시내용은 본원에 개시된 항체 중 어느 하나의 면역글로불린 중쇄 및/또는 면역글로불린 경쇄 가변 영역을 발현하는 하나 이상의 발현 벡터를 제공한다. 유사하게, 출원은 전술한 발현 벡터 및/또는 분리된 핵산 중 하나 이상을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0134] 항체가 개시된 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 결합에 대해 경쟁하는지를 결정하기 위한 경쟁 검정은 당업계에 알려져 있다. 예시적인 경쟁 검정은 면역검정 (예컨대, ELISA 검정, RIA 검정), 표면 플라즈몬 공명 (예컨대, BIAcore 분석), 바이오-층 간섭계 및 유세포 분석법을 포함한다.
- [0135] 전형적으로, 경쟁 검정은 고체 표면에 결합되거나 세포 표면에서 발현되는 항원 (예컨대, 인간 PD-L1 단백질 또는 이의 단편), 테스트 PD-L1 결합 항체 및 참조 항체의 사용을 포함한다. 참조 항체는 표지되고, 테스트 항체는 표지되지 않는다. 경쟁적 억제 테스트 항체의 존재 하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지된 참조 항체의 양을 결정함으로써 측정된다. 일반적으로, 테스트 항체는 과잉 (예컨대, 1x, 5x, 10x, 20x 또는 100x)으로 존재한다. 경쟁 검정에 의해 식별된 항체 (예컨대, 경쟁 항체)는 참조 항체와 동일한 에피토프 또는 유사한 (예컨대, 중복) 에피토프에 결합하는 항체, 및 입체 장애가 발생하도록 참조 항체에 의해 결합된 에피토프에 충분히 근접한 인접한 에피토프에 결합하는 항체를 포함한다.
- [0136] 경쟁 검정은 표지의 존재가 결합을 간섭하거나 억제하지 않도록 하기 위해 두 방향 모두로 실시될 수 있다. 예를 들어, 제1 방향에서는 참조 항체가 표지되고 테스트 항체는 표지되지 않으며, 제2 방향에서는 테스트 항체가 표지되고 참조 항체는 표지되지 않는다.
- [0137] 테스트 항체는 하나의 항체의 과량 (예컨대, 1x, 5x, 10x, 20x 또는 100x)이 다른 항체의 결합을 예컨대, 경쟁적 결합 검정에서 측정된 바와 같이 50%, 75%, 90%, 95% 또는 99% 이상 억제하는 경우, 항원에 대한 특이적 결합에 대해 참조 항체와 경쟁한다.
- [0138] 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원에서의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2 개의 항체는 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 결정될 수 있다. 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 아미노산 돌연변이의 서브세트만이 다른 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 경우, 2 개의 항체는 중첩 에피토프에 결합하는 것으로 결정될 수 있다.
- [0139] 본원에 개시된 항체는 친화도 및/또는 특이성을 포함하는 생화학적 특질을 개선시키고/시키거나, 응집, 안정성, 침전 및/또는 비-특이적 상호작용을 포함하는 생물물리학적 특성을 개선시키고/시키거나, 면역원성을 감소시키기 위해 추가로 최적화 (예컨대, 친화도-성숙)될 수 있다. 예를 들어, 다양성은 DNA 서플링, 사슬 서플링, CDR 서플링, 무작위 돌연변이유발 및/또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 면역글로불린 중쇄 및/또는 면역글로불린 경쇄에 도입될 수 있다.
- [0140] 특정 실시양태에서, 분리된 인간 항체는 하나 이상의 체세포 돌연변이를 함유한다. 이러한 경우에, 항체는 (예컨대, 생식계통화로서 지칭되는 과정에 의해) 항체를 최적화하기 위해 인간 생식계열 서열로 변형될 수 있다.
- [0141] 일반적으로, 최적화된 항체는 이가 유래되는 비-최적화된 (또는 모체) 항체와 항원에 대해 적어도 동일하거나 실질적으로 동일한 친화도를 갖는다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 최적화된 항체는 모체 항체와 비교할 때 항원에 대해 더 높은 친화도를 갖는다.
- [0142] 항체가 치료제로서 사용되는 경우, 이는 표준 생체의 컨쥬게이션 화학을 사용하여 소분자 독소 또는 방사성핵종과 같은 이펙터 약제에 컨쥬게이션될 수 있다. 이펙터 약제가 폴리펩티드인 경우, 항체는 이펙터에 화학적으로 컨쥬게이션되거나, 융합 단백질로서 이펙터에 접합될 수 있다. 융합 단백질의 작제는 이 분야의 통상적인 기술 내에 있다.
- [0143] 항체는 표준 생체의 컨쥬게이션 화학을 사용하여 소분자 독소 또는 방사성핵종과 같은 이펙터 모이어티에 컨쥬게이션될 수 있다. 이펙터 모이어티가 폴리펩티드인 경우, 항체는 이펙터에 화학적으로 컨쥬게이션되거나, 융합 단백질로서 이펙터에 접합될 수 있다. 융합 단백질의 작제는 이 분야의 통상적인 기술 내에 있다.

[0144] 일부 실시양태에서, 단백질은 생체내에서 종양 성장을 억제하는 항체이다.

[0145] 특정 실시양태에서, 단백질은 아테졸리주맙과 비교하여 비슷한 또는 보다 향상된 수준으로 생체내에서 IFN γ 및 TNF α 분비를 유도하는 항체이다.

[0146] 이기능적 단백질

[0147] 특정 실시양태에서, 본원은 이기능적 단백질, 예컨대, 이기능적 항체를 개시한다. 이기능적 단백질은 PD-L1, IgG Fc 도메인 및/또는 기능적 도메인에 결합하는 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 단일 단백질 서열이다. 다른 실시양태에서, 이기능적 단백질은 2 개 이상의 단백질 서열에 의해 형성된 이중이합체이다. PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 본원에 개시된 항-PD-L1 항원-결합 부위, 항체 및/또는 scFv 서열 중 임의의 것일 수 있다. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 항체 중쇄 및 경쇄에 의해 형성된 Fab를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 scFv를 포함할 수 있다. IgG Fc 도메인은 야생형 항체 불변 영역 또는 변형된 항체 불변 영역을 포함할 수 있다. 변형된 항체 불변 영역의 예는 본원에 제공되며, 예를 들어, 노 또는 홀 돌연변이 및 LALAPG 돌연변이를 포함한다. 기능적 도메인은 사이토카인, 사이토카인 수용체 또는 이의 기능적 단편을 포함할 수 있다. 기능적 도메인의 예는 IL-2 폴리펩티드, 예컨대, 표 4에 개시된 IL-2 및 조작된 IL-2 폴리펩티드, IL-15 및 IL-15R α 를 포함한다. 이기능적 단백질의 예는 도 9 및 표 7에 나타나 있으며, IL-2-Fc/항-PD-L1-scFv-Fc 이중이합체; Fc 도메인이 결합된 IL-2-항-PD-L1-scFv-융합 단백질; IL-2-Fc/항-PD-L1-Fab-Fc 이중이합체; 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc 이중이합체; 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합 이합체 또는 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합 이합체 또는 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-2-융합/항-PD-L1-Fab-Fc 이중이합체; 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15-융합/항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15R α -융합 이중이합체; 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15-융합/항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15R α -융합 이중이합체; 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15-융합/항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15R α -융합 이중이합체; 및 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15-융합/항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15R α -융합 이중이합체를 포함한다.

[0148] 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 (i) 서열번호 11, 3, 19, 33, 52 또는 63의 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 12, 4, 20, 34, 41, 53 또는 64의 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 89, 5, 13, 21, 27, 35, 46, 54, 65, 71, 74, 77, 80, 83 또는 86의 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 중쇄 가변 도메인 (VH); 및 (ii) 서열번호 47, 6, 14, 22, 28, 36, 55 또는 66의 서열을 포함하는 CDR1; 서열번호 48, 7, 15, 23, 29, 37, 42, 56, 60 또는 67의 서열을 포함하는 CDR2; 및 서열번호 49, 8, 16, 24, 30, 38, 43, 57 또는 68의 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (VL)을 포함하는 PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위를 포함한다. 특정 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 (a)-(q) 중 하나 이상을 포함하며, 여기서: (a) VH는 서열번호 1과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 2와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (b) VH는 서열번호 9와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 10과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (c) VH는 서열번호 17과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 18과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (d) VH는 서열번호 25와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 26과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (e) VH는 서열번호 31과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 32와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (f) VH는 서열번호 39와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 40과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (g) VH는 서열번호 44와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 45와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고

/이루어지거나; (h) VH는 서열번호 50과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 51과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (i) VH는 서열번호 58과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 59와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (j) VH는 서열번호 61과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 62와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (k) VH는 서열번호 69와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 70과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (l) VH는 서열번호 72와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 73과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (m) VH는 서열번호 75와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 76과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (n) VH는 서열번호 78과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 79와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (o) VH는 서열번호 81과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 82와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (p) VH는 서열번호 84와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 85와 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고/이루어지거나; (q) VH는 서열번호 87과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, VL은 서열번호 88과 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이루어진다.

[0149] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 인간 IgG 중쇄 불변 영역인 항체 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 인간 IgG1 중쇄 불변 영역이다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, L234A, L235A, P329G, Y349C, S354C, T366S, T366W, L368A, F405K, K409A 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90에 비해, S354C, T366W 및 K409A로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 이중이합체이고, 제1 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 제1 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 90에 비해, 돌연변이 S354C, T366W 및 K409A를 포함하고; 제2 중쇄 불변 영역은 서열번호 90에 비해, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, 돌연변이 Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체 중쇄 불변 영역은 L234A, L235A 및 P329G 돌연변이를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 및 제2 항체 중쇄 불변 영역 중 하나는 서열번호 91의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 항체 중쇄 불변 영역은 서열번호 92의 아미노산 서열을 포함한다.

[0150] 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 기능적 도메인을 포함하며, 여기서 기능적 도메인은 IL-15 또는 IL-15R α 또는 이의 기능적 단편이다. IL-15는 4 개의 α -나선 번들-함유 사이토카인의 구성원이다. IL-15는 전형적으로 T 세포 및 NK 세포 상의 기능적 IL-15 수용체 베타 및 감마 유닛에 결합하기 전에 APC에서 발현된 IL-15 수용체 알파와의 복합체를 형성한다. IL-15는 수용체 알파 쇄의 막 형태에 결합된 사이토카인 자체를 발현하는 세포에 의해 IL-2R β (IL15RB 또는 CD122) 및 IL-2R γ (CD132)를 발현하는 반응성 세포에 트랜스로 제시될 수 있다. 이론에 얽매이지 않고, IL-15 수용체 알파 스시 도메인은 수용체 β 및 γ 와의 적절한 인게이지먼트 전에 IL-15와 복합체를 형성하는 데 필요한 것으로 생각된다. IL-15 및 IL-15R α 복합체 및 IL-15/IL-15R α 스시 도메인 융합 단백질은 CD8 T 세포 및 NK 세포를 자극하는 데 매우 강력한 것으로 보고된다.

- [0151] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 이기능적 단백질은 다음을 포함한다: (a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 제1 항체 중쇄 불변 영역, 및 IL-15 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는 제1 서브유닛; 및 (b) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 제2 항체 중쇄 불변 영역, 및 IL-15R α 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 서브유닛. 일부 실시양태에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 93 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-15 폴리펩티드는 서열번호 93의 아미노산 50-162 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-15R α 폴리펩티드는 서열번호 94 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시양태에서, IL-15R α 폴리펩티드는 서열번호 94의 아미노산 31-97 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함한다.
- [0152] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 이기능적 단백질은 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15-융합 단백질 및 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-15R α -융합 단백질을 포함하는 이중이합체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 서열번호 186 (EP203)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 서브유닛, 서열번호 187 (EP204)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 서브유닛; 및 서열번호 181 (EP205)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제3 서브유닛을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 186의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 제2 서브유닛은 서열번호 187의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며; 제3 서브유닛은 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다.
- [0153] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 이기능적 단백질은 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15-융합 단백질 및 항-PD-L1-scFv-Fc-IL-15R α -융합 단백질을 포함하는 이중이합체이다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 서열번호 188 (EP207)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제1 서브유닛 및 서열번호 189 (EP208)와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 서브유닛을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 서열번호 188의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 제1 서브유닛, 및 서열번호 189의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 제2 서브유닛을 포함한다.
- [0154] 특정 실시양태에서, 본원에 개시된 이기능적 단백질은 기능적 도메인을 포함하며, 여기서 기능적 도메인은 IL-2, 예를 들어, 야생형 IL-2 또는 조작된 IL-2, 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체이다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "인터루킨-2" 또는 "IL-2"는 달리 나타내지 않는 한, 포유류, 예컨대, 인간 또는 마우스를 포함하는 임의의 척추동물 공급원으로부터의 IL-2를 지칭한다. 이 용어는 전구체 또는 미가공된 IL-2뿐만 아니라 세포 가공으로 인해 발생하는 임의의 형태의 IL-2를 포함한다. 이 용어는 또한 스플라이스 변이체 또는 대립유전자 변이체와 같은 IL-2의 자연 발생 변이체를 포함한다. 예시적인 성숙한 인간 IL-2의 아미노산 서열은 서열번호 191에 나타나 있다. IL-2와 관련하여 사용될 때 "야생형" 또는 "천연"은 성숙한 IL-2 분자 (예컨대, 서열번호 191)를 의미하는 것으로 의도된다. 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "조작된 IL-2" 또는 "조작된 IL-2 폴리펩티드"는 천연 또는 야생형 IL-2와 상이한 하나 이상의 잔기를 갖는 IL-2를 포함하고, 전장 IL-2, 절삭된 형태의 IL-2, 및 IL-2가 다른 폴리펩티드와 같은 다른 분자와 연결되거나 융합된 형태를 포함한다. 조작된 IL-2의 다양한 형태는 IL-2와 IL-2R β 및/또는 IL-2R α 의 상호작용에 영향을 미치는 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는 것을 특징으로 한다. 예컨대, 서열번호 192에 도시된 서열과 관련하여 본원에 기재된 바와 같은 IL-2의 다양한 조작된 형태의 식별이 이루어진다. 일부 실시양태에서, IL-2는 T3A 치환을 포함하도록 변형된다. 야생형 서열에 대해 T3A 치환이 이루어질 수 있다. 게다가, 본원에 개시된 조작된 IL-2 서열에 대해 T3A 치환이 이루어질 수 있다. 야생형 및 조작된 IL-2 폴리펩티드의 예는 PCT/US2020/046244에 기재되어 있으며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 인용된다.
- [0155] IL-2는 림프구 증식 및 활성화를 조정한다. IL-2는 최대 3 개의 개별 서브유닛을 포함하는 IL-2 수용체 (IL-2R)에 결합함으로써 이의 작용을 매개한다. 인터루킨-2 수용체 알파쇄 (IL-2R α 또는 CD25), 인터루킨-2 수용체 베타쇄 (IL-2R β 또는 CD122) 및 인터루킨-2 수용체 감마쇄 (IL-2R γ 또는 CD132)는 IL-2에 대해 고-친화도 수용체인 삼합체성 IL-2R $\alpha\beta\gamma$ 를 초래한다. IL-2R β 및 IL-2R γ 서브유닛의 회합은 이합체성 수용체 IL-2R $\beta\gamma$ 를 초래하고, 중간 친화도 IL-2R로 불린다. IL-2R α 서브유닛은 단량체성 저 친화도 IL-2 수용체를 형성한다. IL-2R α 의 발현은 면억억압 조절 T 세포 (T조절)의 확장에 관여하는 반면; 이합체성 IL-2R $\beta\gamma$ 는 IL-2R α 의 부재 하에 세포용해성 CD8⁺ T 세포 및 NK 세포 증식 및 살해를 초래할 수 있다.
- [0156] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하고 야생형 IL-2 (예컨대, 서열번호 191)를 포함하는 항원-결합 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하고 조작된 IL-2 (예컨대, 서열번호 192)를 포함하는 항원-결합 부위를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하고 조작된 IL-2를 포함하는 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 조작된 IL-2 폴리펩티드는 다음을 포함한다:

- [0157] (a) 야생형 IL-2에 비해, 다음으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 IL-2 수용체 α (IL-2R α) 결합 영역 1:
- [0158] K35G, K35L, K35S, K35V, K35D, K35E 및 K35C로부터 선택된 위치 K35에서의 돌연변이;
- [0159] R38V, R38D, R38E, R38S, R38I, R38A, R38Y, R38G, R38C 및 R38N으로부터 선택된 위치 R38에서의 돌연변이;
- [0160] F42A, F42R, F42G, F42I, F42L, F42P 및 F42H로부터 선택된 위치 F42에서의 돌연변이; 및
- [0161] Y45S, Y45P, Y45A, Y45V, Y45C, Y45T 및 Y45F로부터 선택된 위치 Y45에서의 돌연변이, 및/또는
- [0162] (b) 다음을 포함하는 IL-2 수용체 β (IL-2R β) 결합 영역 2 모티프:
- [0163] X1-X2-X3-D-X4-X-5-X6-N-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13 (서열번호 95),
- [0164] 여기서:
- [0165] X1은 C, T, G, W, I, S, E 및 K로부터 선택되고;
- [0166] X2는 Y, P, V, W, L, A 및 G로부터 선택되고;
- [0167] X3은 S, T, Q, G, M, E, R 및 K로부터 선택되고;
- [0168] X4는 A, V, S 및 T로부터 선택되고;
- [0169] X5는 I, L, T 및 V로부터 선택되고;
- [0170] X6은 S, T, E, D 및 R로부터 선택되고;
- [0171] X7은 I, A, M 및 V로부터 선택되고;
- [0172] X8은 S, T, N, Q, I, G, E, K 및 R로부터 선택되고;
- [0173] X9는 V, L 및 I로부터 선택되고;
- [0174] X10은 N, T, I 및 L로부터 선택되고;
- [0175] X11은 V, A 및 I로부터 선택되고;
- [0176] X12는 Q, L, G, K 및 R로부터 선택되며;
- [0177] X13은 A, D 및 E로부터 선택됨.
- [0178] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하고 조작된 IL-2를 포함하는 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서 조작된 IL-2 폴리펩티드는 다음을 포함한다: (a) 서열번호 124-147로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-2R α 결합 영역 1; 및/또는 (b) 서열번호 96-123으로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 IL-2R β 결합 영역 2 모티프. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하고 조작된 IL-2를 포함하는 항원-결합 부위를 포함하며, 여기서: (a) IL-2R α 결합 영역 1은 서열번호 124-147로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고/하거나; (b) IL-2R β 결합 영역 2 모티프는 서열번호 96-123으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 scFv 또는 Fab이다.
- [0179] 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 (b) 야생형 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체를 포함하는 제2 서브유닛에 융합된 (a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위를 포함하는 제1 서브유닛을 포함하는 융합 단백질이다. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 scFv 또는 Fab이다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 서열번호 160-164로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 서열번호 160-164 (각각 EP199, EP200, EP201 및 EP461)로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0180] 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 (a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위 및 제1 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 서브유닛; 및 (b) 야생형 또는 조작된 IL-2 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 서브유닛을 포함하는 이종이합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 scFv 또는 Fab이다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 이종이합체를 포함하며, 여기서 제1 서브유닛은 항-PD-L1-scFv-Fc 융합 단백질이고, 제2 서브유닛은 IL-2-Fc 융합 단백질이다. 일부 실

시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 176 (EP326)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열, 및 서열번호 165-175 (각각 EP290, EP291, EP297, EP412, EP413, EP414, EP415, EP416, EP417, EP418, EP419)로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 제2 서브유닛을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 176의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 제2 서브유닛은 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 다음을 포함하는 단백질의 이종이합체를 포함한다: (a) 서열번호 176 및 서열번호 165; (b) 서열번호 176 및 서열번호 166; (c) 서열번호 176 및 서열번호 167; (d) 서열번호 176 및 서열번호 168; (e) 서열번호 176 및 서열번호 169; (f) 서열번호 176 및 서열번호 170; (g) 서열번호 176 및 서열번호 171; (h) 서열번호 176 및 서열번호 172; (i) 서열번호 176 및 서열번호 173; (j) 서열번호 176 및 서열번호 174; 또는 (k) 서열번호 176 및 서열번호 175.

[0181] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 이종이합체를 포함하며, 여기서 제1 서브유닛은 항-PD-L1-Fab-Fc 융합 단백질이고, 제2 서브유닛은 IL-2-Fc 융합 단백질이다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 177-180 (각각 EP325, EP462, EP463, EP464)으로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제1 서브유닛은 서열번호 181 (EP205)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하는 LC 도메인을 추가로 포함하고, 제2 서브유닛은 서열번호 165-175 (각각 EP290, EP291, EP297, EP412, EP413, EP414, EP415, EP416, EP417, EP418, EP419)로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 177-180으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, LC 도메인은 서열번호 181의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 제2 서브유닛은 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 다음을 포함하는 단백질의 이종이합체를 포함한다: (a) 서열번호 177 및 서열번호 181, 서열번호 178 및 서열번호 181; 서열번호 179 및 서열번호 181; 또는 서열번호 180 및 서열번호 181을 포함하는 제1 서브유닛; 및 (b) 서열번호 165-175로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 제2 서브유닛. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 (a) 서열번호 165, 서열번호 177 및 서열번호 181; (b) 서열번호 166, 서열번호 177 및 서열번호 181; (c) 서열번호 167, 서열번호 177 및 서열번호 181; (d) 서열번호 168, 서열번호 177 및 서열번호 181; (e) 서열번호 169, 서열번호 177 및 서열번호 181; (f) 서열번호 170, 서열번호 177 및 서열번호 181; (g) 서열번호 171, 서열번호 177 및 서열번호 181; (h) 서열번호 172, 서열번호 177 및 서열번호 181; (i) 서열번호 173, 서열번호 177 및 서열번호 181; (j) 서열번호 174, 서열번호 177 및 서열번호 181; (k) 서열번호 175, 서열번호 177 및 서열번호 181; (l) 서열번호 171, 서열번호 178 및 서열번호 181; (m) 서열번호 171, 서열번호 179 및 서열번호 181; 및 (n) 서열번호 171, 서열번호 180 및 서열번호 181로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 단백질의 이종이합체를 포함한다.

[0182] 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 다음을 포함한다: (a) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위 및 제1 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제1 서브유닛; 및 (b) PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위, 조작된 인터루킨-2 (IL-2) 폴리펩티드 또는 이의 기능적 단편 또는 변이체 및 제2 항체 중쇄 불변 영역을 포함하는 제2 서브유닛. 일부 실시양태에서, PD-L1에 결합하는 항원-결합 부위는 scFv 또는 Fab이다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 이종이합체를 포함하며, 여기서 제1 서브유닛은 항-PD-L1-Fab-Fc이고, 제2 서브유닛은 항-PD-L1-Fab-Fc-IL-2-융합 단백질이다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 182 (EP362)와 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 서브유닛은 서열번호 183-185 (EP363, EP364, EP365)로부터 선택된 아미노산 서열과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 포함하며; 임의로 여기서 제1 및 제2 서브유닛은 각각 독립적으로 서열번호 181 (EP205)과 90% 이상 동일한 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 서브유닛은 서열번호 182의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지고, 제2 서브유닛은 서열번호 183-185로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어지며; 임의로 여기서 제1 및 제2 서브유닛은 각각 독립적으로 서열번호 181의 아미노산 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 (a) 서열번호 182; 서열번호 183; 및 서열번호 181; (b) 서열번호 182; 서열번호 184; 및 서열번호 181; 및 (c) 서열번호 182; 서열번호 185; 및 서열번호 181로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 단백질의 이종이합체를 포함한다.

[0183] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 SPR에 의해 측정된 바와 같이 PD-L1에 결합하는 포함된 항원-결합 부위와 비교하여 약 1 nM 미만의 KD로 또는 비슷한 또는 더 낮은 KD로 인간 PD-L1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 SPR에 의해 측정된 바와 같이 약 65 nM 미만 또는 약 50 nM 미만의 KD로 IL-2R β 에 결합한다.

[0184] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 SPR에 의해 측정된 바와 같이 약 40 nM 미만의 KD로 IL-2R α 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 SPR에 의해 측정된 바와 같이 약 100 nM 미만, 약 80 nM

미만, 약 50 nM 미만, 약 10 nM 미만 또는 약 5 nM 미만의 KD로 IL-2R β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 SPR에 의해 측정된 바와 같이 약 0.5 nM 미만 또는 약 0.1 nM 미만의 KD로 PD-L1에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 약 1 nM 미만의 EC50으로 IL-2R α 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 약 5 nM 미만, 약 2.5 nM 미만, 약 1.5 nM 미만, 약 1 nM 미만 또는 약 0.6 nM 미만의 EC50으로 IL-2R β 에 결합한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 약 0.4 nM 미만의 EC50으로 PD-L1에 결합한다.

[0185] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 PD-L1에 결합하기 위해 PD-1과 경쟁하거나, PD-1에 결합하는 PD-L1을 억제한다.

[0186] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도한다. 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 단리된 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)에서 측정된 바와 같이 약 1 nM 미만, 약 0.6 nM 미만, 0.5 nM, 또는 약 0.1 nM 미만의 EC50으로 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하며, 여기서 면역 세포는 T 세포, NK 세포 또는 T조절이다. 특정 실시양태에서, 이기능적 단백질은 마우스 비장세포에서 측정된 바와 같이 면역 세포에서 p-STAT5 발현을 유도하며, 여기서 면역 세포는 T 세포, NK 세포 또는 T조절이다.

[0187] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 생체내에서 종양 성장을 억제한다.

[0188] 일부 실시양태에서, 이기능적 단백질은 생체내에서 면역 세포 증식을 유도한다. 일부 실시양태에서, 면역 세포는 T 세포 또는 NK 세포이다. 일부 실시양태에서, T 세포는 CD8⁺ T 세포이다.

[0189] 표 4: IL-2 서브유닛의 서열.

야생형 인간 IL-2	APTSSTTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPDLISNTNVIV LELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNRWITF CQSIISTLT	서열번호 191
변형된 IL-2R 결합 영역 2를 갖는 IL-2	APTSSTTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNY KNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEE ELKPLEEVLNLAQSKNFHLX ₁ X ₂ DX ₄ X ₅ X ₆ N X ₇ X ₈ X ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ LKGSETTFMCEYADETA TIVEFLNRWITFCQSIISTLT	서열번호 192
IL-2Rβ 결합 영역 2	X ₁ -X ₂ - X ₃ -D-X ₄ -X ₅ -X ₆ -N-X ₇ -X ₈ -X ₉ -X ₁₀ -X ₁₁ - X ₁₂ -X ₁₃	서열번호 95
IL-2Rβ 결합 영역 2	GVTDNISNAIVLARE	서열번호 96
IL-2Rβ 결합 영역 2	KWGDVAVSNARVLAGE	서열번호 97
IL-2Rβ 결합 영역 2	KWGDVAVSNARVLAGA	서열번호 98
IL-2Rβ 결합 영역 2	TLMDTTDNIGVLVRE	서열번호 99
IL-2Rβ 결합 영역 2	EPSDVISNINVLVQE	서열번호 100
IL-2Rβ 결합 영역 2	SPQDSIENISVLVRE	서열번호 101
IL-2Rβ 결합 영역 2	WASDSIENITLLIQE	서열번호 102
IL-2Rβ 결합 영역 2	CPTDTIENITVLIQE	서열번호 103
IL-2Rβ 결합 영역 2	RYKDSLENMQIIQE	서열번호 104
IL-2Rβ 결합 영역 2	TARDAVDNMRVVIQE	서열번호 105
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPRDVVENMNVLVLE	서열번호 106
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPSDVIENMEVLILD	서열번호 107
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPSDAIENINVLIRE	서열번호 108
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPSDVIENITVLVQE	서열번호 109
IL-2Rβ 결합 영역 2	GVGDTIDNINVLVKE	서열번호 110
IL-2Rβ 결합 영역 2	IGRDSIDNIKVIVQE	서열번호 111
IL-2Rβ 결합 영역 2	WATDITRNVEVLVQE	서열번호 112
IL-2Rβ 결합 영역 2	TAEDVVTNITVLVQE	서열번호 113
IL-2Rβ 결합 영역 2	TAEDVISNIRVNVQE	서열번호 114
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPSDVIDNVISITVQE	서열번호 115
IL-2Rβ 결합 영역 2	TARDAISNIRVIVQE	서열번호 116
IL-2Rβ 결합 영역 2	RARDAIDNIRVIVQE	서열번호 117
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPRDAIDNINVIIQE	서열번호 118
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPRDAIDNIRVIVQE	서열번호 119
IL-2Rβ 결합 영역 2	TPRDAIDNIRVILE	서열번호 120
IL-2Rβ 결합 영역 2	TARDAISNINVIIQE	서열번호 121
IL-2Rβ 결합 영역 2	TARDAIDNINNVIVQE	서열번호 122
IL-2Rβ 결합 영역 2	TARDAIDNIRVIVLE	서열번호 123
IL-2Rα 결합 영역 1	PVLTRMLTIKFY	서열번호 124
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTRMLTLKFP	서열번호 125
IL-2Rα 결합 영역 1	PDLTSMIAFKFY	서열번호 126
IL-2Rα 결합 영역 1	PGLTEMLTFKFY	서열번호 127
IL-2Rα 결합 영역 1	PSLTRMLTGKFY	서열번호 128
IL-2Rα 결합 영역 1	PELTIMLTPKFY	서열번호 129
IL-2Rα 결합 영역 1	PCLTAMLTLKFA	서열번호 130
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTRMLTHKFV	서열번호 131
IL-2Rα 결합 영역 1	PCLTDMLTFKFY	서열번호 132

[0190]

IL-2Rα 결합 영역 1	PLLTDMLTRKFY	서열번호 133
IL-2Rα 결합 영역 1	PLLTDMLTFKFY	서열번호 134
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTDMLTFKFS	서열번호 135
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTYMLTRKFY	서열번호 136
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTRMLTFKFC	서열번호 137
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTSMLTFKFS	서열번호 138
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTYMLTFKFS	서열번호 139
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTGMLTFKFS	서열번호 140
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTVMLTFKFT	서열번호 141
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTVMLTFKFS	서열번호 142
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTVMLTFKFP	서열번호 143
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTVMLTFKFF	서열번호 144
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTCMLTFKFA	서열번호 145
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTNMLTFKFA	서열번호 146
IL-2Rα 결합 영역 1	PKLTNMLTFKFS	서열번호 147

[0191]

[0192] 표 5: 항-PD-L1 scFv 및 IL-2 서브유닛을 포함하는 이기능적 단백질의 서열.

EP199 2019EP69-F03; C125S 를 갖는 IL2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGS AWRGDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQRPSSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPFGG GTLKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLT	서열번호 160
EP200 2019EP69-F03; C125S 를 갖는 IL2	APTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGS AWRGDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQRPSSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPFGG GTLKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLT	서열번호 161
EP201 2019EP69-F03; 서열번호 105 및 C125S 를 갖는 IL2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGS AWRGDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQRPSSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPFGG GTLKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLT	서열번호 162
EP202 2019EP69-F03; 서열번호 105 및 C125S 를 갖는 IL2	APTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGS AWRGDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQRPSSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPFGG GTLKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLT	서열번호 163
EP461 2019EP69-F03; K35L/R38D/F42R 돌연변이를 갖는 IL2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGS AWRGDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSSQSVLTQPPSASGTPGQQRVTISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQRPSSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWDDSLKGPFGG GTLKLTVLGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPTSSSTKKTKQLQLEHLLDLQMLNGDNNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEV LNLAQSKNFHLRPRDLISNNVIVLELKGSETTFMCEYADETATVFEFLNRWITFAQSIISTLT	서열번호 164

[0193]

[0194] 표 6: IgG1 Fc 접 또는 홀 돌연변이, 항-PD-L1 항원-결합 부위 및/또는 IL-2, IL-15 또는 IL15R α를 포함하는 이기능적 단백질의 구성요소 부분의 서열.

EP290 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPDLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 165
EP291 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP003	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTR MLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLGVTDNISNAIVLARELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 166
EP297 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP001	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPKLTE MLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTARDAVDNMRVIIQELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSH EALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 167
EP412 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 T3A/K35L/R38D/F42R 을 갖는 IL2	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPLTLD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLRPDLISNINIVLELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 168
EP413 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 K35L/R38D/F42R 을 운반하는 IL2 EP001	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPLTLD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTARDAVDNMRVIIQELKGSETTFMCEYADETATI VEFLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPC RDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSH EALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 169
EP414 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 K35L/R38D/F42R 을 운반하는 IL2 EP003	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPLTLD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLGVTDNISNAIVLARELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDE LTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSVMSHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 170
EP415	APASSSTKKTKQLQLEHLLLDLQMLNGINNYKNPLTLD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK	서열번호

[0195]

<p>놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP337</p>	<p>NFHLTARDAIDNNVIVQELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	171
<p>EP416 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP338</p>	<p>APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNYKNPLITD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTARDAISNNVVIQELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLTEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	서열번호 172
<p>EP417 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP339</p>	<p>APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNYKNPLITD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTPRDAIDNIRVIVQELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	서열번호 173
<p>EP418 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP340</p>	<p>APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNYKNPLITD MLTRKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTPRDAIDNIRVILELKGSETTFMCEYADETATIVE FLNRWITFSQSIISTLTEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYITL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	서열번호 174
<p>EP419 놈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc에 융합된 IL2 EP343</p>	<p>APASSSTKKTQLQLEHLLDLQMLNGNNYKNPKLTD MLTFKFSMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLAQSK NFHLTPRDAIDNIRVIVQELKGSETTFMCEYADETATIV EFLNRWITFSQSIISTLTEPKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYIT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	서열번호 175
<p>EP326 2019EP69-F03, ScFv- IgG1, 홈 및 LALAPG 돌연변이를 가짐</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGSARWDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSASGTPG QRVITISCSGSYSNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNQ RPSGVDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWD DSLKGPIFGGGTKLTVLDKHTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK</p>	서열번호 176
<p>EP325</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS</p>	서열번호 177

[0196]

2019EP69-F03, 항-PDL1, HC-IgG1, Y349C, T366S, L368A, F405K, Y407V를 갖는 홀; LALAPG 돌연변이	TAYMELSSLRSED TAVYYCARDK WYGS AWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
EP462 2018EP171-H02, HC-IgG1, 홀 및 LALAPG 돌연변이를 가짐	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARDKGYSGWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 178
EP463 2019EP69-E10, HC-IgG1, 홀 및 LALAPG 돌연변이를 가짐	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARDKGYSGWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 179
EP464 2019EP69-F02, HC-IgG1, 홀 및 LALAPG 돌연변이를 가짐	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARDK WYGS AWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	서열번호 180
EP205 2019EP69-F03, 항-PDL1, LC	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSGYSNIGSNFVNWYQQ LPGTAPKLLIHFNQRP SGVPDRFSGSRSGTSASLAISGL QSEDEADYFCSTWDDSLKGPIFGGGLKLTVLGQPKANP TVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKAD GSPVKAGVETTKPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWQKSHR SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	서열번호 181
EP362 홀 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVR QAPGGGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARDK WYGS AWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDI	서열번호 182

[0197]

	AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSALTVDKS RWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK	
EP363 홈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1; IL2 와 융합됨;	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDYAVYYCARDKWYGSAAWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFSLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGGGGGAPASSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDLISNINVTLELKGSETT FMCEYADETATVEFLNRWITFSQSIISTLT	서열번호 183
EP364 홈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1; EP001 와 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDYAVYYCARDKWYGSAAWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFSLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGGGGGAPASSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNGINNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLTARDAVDNMRVVIQELKGSE TTFMCEYADETATVEFLNRWITFSQSIISTLT	서열번호 184
EP365 홈 및 LALAPG 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1; T3A/R38V/F45S 불 운반하는 IL2 EP250 과 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDYAVYYCARDKWYGSAAWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALGAPIEKTISKA KGQPREPQVCTLPSSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFSLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGGGGGAPASSSTKKTQLQLEHLLDLQMI LNGINNYKNPKLTVMLTFKFSMPKKATELKHLCLEEE LKPLEEVLNLAQSKNFHLTPRDAISNIRVIIQELKGSETT FMCEYADETATVEFLNRWITFSQSIISTLT	서열번호 185
EP203 놈 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1; IL15 (50-162)와 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDYAVYYCARDKWYGSAAWRGDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVELTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALGAPIEKTISKA GQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSALTVDKSR WQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGGGGGWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATL	서열번호 186

[0198]

	YTESDVHPSCKVTAMKCFLLQLVISLESQDASIHDTVE NLILANNSLSSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	
EP204 홀 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 HC-IgG1; IL15Rα (31-97)와 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGSARWDYWGQ GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSG GGGGGGGGSGGGGSITCPPMSVEHADIWVKSYSLYSR ERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPSLK CIRDP	서열번호 187
EP207 놈 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 ScFv- IgG1-Fc; IL15 (50- 162)와 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGSARWDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPASGTPG QRTVISCSSGSYNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNNQ RPSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWD DSLKGPIFGGGTKLTVLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFFLYSALTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGS WVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVT AMKCFLLQLVISLESQDASIHDTVENLILANNSLSSNGN VTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS	서열번호 188
EP208 홀 돌연변이를 갖는 2019EP69-F03 ScFv- IgG1-Fc; IL15Rα (31- 97)와 융합됨	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTS TAYMELSSLRSEDTAVYYCARDKWYGSARWDYWGQ GTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPASGTPG QRTVISCSSGSYNIGSNFVNWYQQLPGTAPKLLIHFNNQ RPSGVPDRFSGSRSGTSASLAISGLQSEDEADYFCSTWD DSLKGPIFGGGTKLTVLDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSFKLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGS ICPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTS SLTECVLNKATNVAHWTPSLKCIRDP	서열번호 189

[0199]

[0200]

본 개시내용의 다양한 항체, 이기능적 단백질 및 대안적인 형식의 예는 도 9에 나타나 있고, 표 7에 제공되어 있다.

[0201]

표 7: 예시적인 항체, 이기능적 항체 및 대안적인 형식.

형식	부분	IL-2 또는 IL-15/IL-15R α	PD-L1
항원-결합 부위 (예컨대, scFv)		NA	아래 참고
IL-2/항-PD-L1 scFv Fc	EP290/EP326	IL-2 Fc	2019EP69-F03 클론
	EP291/EP326	EP003	
	EP297/EP326	EP001	
	EP412/EP326	WT, K35L/R38D/F42R	
	EP413/EP326	EP001, K35L/R38D/F42R	
	EP414/EP326	EP003, K35L/R38D/F42R	
	EP415/EP326	EP337, K35L/R38D/F42R	
	EP416/EP326	EP338, K35L/R38D/F42R	
	EP417/EP326	EP339, K35L/R38D/F42R	
	EP418/EP326	EP340, K35L/R38D/F42R	
	EP419/EP326	EP343, K35L/R38D/F42R	
항-PD-L1 Fab/IL-15 융합	EP203/EP204/EP205	WT IL15 & IL15R α	2019EP69-F03 클론
항-PD-L1 scFv/IL-15 융합	EP207/EP208	WT IL15 & IL15R α	2019EP69-F03 클론
IL-2/항-PD-L1 scFv 융합	EP199	C125S 를 갖는 WT	2019EP69-F03 클론
	EP200	C125S 를 갖는 WT	
	EP201	C125S 를 갖는 EP001	
	EP202	C125S 를 갖는 EP001	
IL-2/항-PD-L1 Fab	EP461	K35L/R38D/F42R/C1 25S 를 갖는 WT	2019EP69-F03 클론
	EP290/EP325/EP205	WT	
	EP291/EP325/EP205	EP003	
	EP297/EP325/EP205	EP001	
	EP412/EP325/EP205	WT, K35L/R38D/F42R	
	EP413/EP325/EP205	EP001, K35L/R38D/F42R	
	EP414/EP325/EP205	EP003, K35L/R38D/F42R	
	EP415/EP325/EP205	EP337, K35L/R38D/F42R	
항-PD-L1 Fab/IL-2 융합	EP416/EP325/EP205	EP338,	2019EP69-F03 클론
항-PD-L1 Fab/IL-2 융합	EP362/EP363/EP205	WT	2019EP69-F03 클론
	EP362/EP364/EP205	EP001	
	EP362/EP365/EP205	EP250, R38V/F45S	
항-PD-L1 IgG1 항체	EP206/EP205	NA	2019EP69-F03 클론

[0202]

형식	부분	IL-2 또는 IL-15/IL-15R α	PD-L1
항-PD-L1 Fab/IL-2 융합		K35L/R38D/F42R	
	EP417/EP325/EP205	EP339, K35L/R38D/F42R	
	EP418/EP325/EP205	EP340, K35L/R38D/F42R	
	EP419/EP325/EP205	EP343, K35L/R38D/F42R	
	EP415/EP462/EP205	EP337, K35L/R38D/F42R	2018EP171-H02
	EP415/EP463/EP205	EP337, K35L/R38D/F42R	2019EP69-E10
	EP415/EP464/EP205	EP337, K35L/R38D/F42R	2019EP69-F02
항-PD-L1 Fab/IL-2 융합	EP362/EP363/EP205	WT	2019EP69-F03 클론
	EP362/EP364/EP205	EP001	
	EP362/EP365/EP205	EP250, R38V/F45S	
항-PD-L1 IgG1 항체	EP206/EP205	NA	2019EP69-F03 클론

[0203]

- [0204] 백터 및 생산의 방법
- [0205] 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 바와 같은 항원-결합 부위, 단백질 및/또는 항체, 및/또는 이 기능적 단백질 및/또는 항체, 또는 이의 임의의 단편, 변이체 또는 조합을 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 백터를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 본 개시내용의 발현 백터를 포함하는 변형된 세포를 추가로 포함한다.
- [0206] 일부 실시양태에서, 본 개시내용은 현재 개시된 PD-L1-항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이의 변이체 중 임의의 것을 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 숙주 세포에서의 발현을 위해 코돈-최적화된다. 코딩 서열이 알려지거나 식별되면, 코돈 최적화는 알려진 기술 및 도구, 예컨대, GenScript OptimumGene 도구를 사용하여 수행될 수 있으며; 또한 Scholten *et al.*, *Clin. Immunol.* 119:135, 2006을 참고한다). 코돈-최적화된 서열은 부분적으로 코돈-최적화된 (즉, 하나 이상의 코돈이 숙주 세포에서의 발현을 위해 최적화됨) 서열 및 완전히 코돈-최적화된 서열을 포함한다.
- [0207] 또한 본 개시내용의 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 예를 들어, 유전자 코드의 축퇴 및 스플라이싱 등으로 인해 동일한 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체를 여전히 인코딩하면서 상이한 뉴클레오타이드 서열을 보유할 수 있음이 이해될 것이다.
- [0208] 백터가 또한 제공되며, 여기서 백터는 본원에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 (즉, PD-L1 항원-결합 부위, -특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드)를 포함하거나 함유한다. 백터는 본원에 개시된 백터 중 임의의 하나 이상을 포함할 수 있다.
- [0209] 추가 양태에서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용에 따른 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체를 발현하는 숙주 세포; 또는 본 개시내용에 따른 백터 또는 폴리뉴클레오타이드를 포함하거나 함유하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0210] 이러한 세포의 예는 진핵 세포, 예컨대, 효모 세포, 동물 세포, 곤충 세포, 식물 세포; 및 대장균을 포함하는 원핵 세포를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 일부 실시양태에서, 세포는 포유동물 세포이다. 이러한 특정 실시양태에서, 세포는 포유동물 세포주, 예컨대, CHO 세포 (예컨대, DHFR-CHO 세포 (Urlaub *et al.*, *PNAS* 77:4216 (1980)), 인간 배아 콩팥 세포 (예를 들어, HEK293T 세포), PER.C6 세포, Y0 세포, Sp2/0 세포, NSO 세포, 인간 간 세포, 예컨대, Hepa RG 세포, 골수종 세포 또는 하이브리도마 세포이다. 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는 마우스 세르톨리 세포 (예컨대, TM4 세포); SV40에 의해 형질전환된 원숭이 콩팥 CV1 계통 (COS-7); 아기 햄스터 콩팥 세포 (BHK); 아프리카 녹색 원숭이 콩팥 세포 (VERO-76); 원숭이 콩팥 세포 (CV1); 인간 자궁 경부 암종 세포 (HELA); 인간 폐 세포 (W138); 인간 간 세포 (Hep G2); 개 콩팥 세포 (MDCK; 버팔로 랫트 간 세포 (BRL 3A); 마우스 유방 종양 (MMT 060562); TRI 세포; MRC 5 세포; 및 FS4 세포를 포함한다. 항체 생산에 적합한 포유동물 숙주 세포주는 또한 예를 들어, Yazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), pp. 255-268 (2003)에 기재된 것들을 포함한다.
- [0211] 특정 실시양태에서, 숙주 세포는 원핵 세포, 예컨대, 대장균이다. 원핵 세포, 예컨대, 대장균에서 펩티드의 발현은 잘 확립되어 있다 (예컨대, Pluckthun, A. *Bio/Technology* 9:545-551 (1991) 참고. 예를 들어, 항체는 특히 글리코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요하지 않을 때 박테리아에서 생산될 수 있다. 박테리아에서 항체 단편 및 폴리펩티드의 발현에 대하여, 예컨대, 미국 특허 번호 5,648,237; 5,789,199; 및 5,840,523을 참고한다.
- [0212] 특정 실시양태에서, 세포는 발현 백터와 함께 본 설명에 따른 백터로 형질주입될 수 있다. 용어 "형질주입"은 DNA 또는 RNA (예컨대, mRNA) 분자와 같은 핵산 분자의 세포, 예컨대, 진핵 세포로의 도입을 지칭한다. 본 설명의 맥락에서, 용어 "형질주입"은 포유동물 세포를 포함하는 진핵 세포와 같은 세포에 핵산 분자를 도입하기 위한 당업자에게 알려진 임의의 방법을 포함한다. 이러한 방법은 예를 들어, 전기천공, 예컨대, 양이온성 지질 및/또는 리포솜에 기반한 리포펙션, 칼슘 포스페이트 침전, 나노입자 기반 형질주입, 바이러스 기반 형질주입, 또는 양이온성 중합체, 예컨대, DEAE-텍스트란 또는 폴리에틸렌이민에 기반한 형질주입 등을 포함한다. 특정 실시양태에서, 도입은 비-바이러스성이다.
- [0213] 더욱이, 본 개시내용의 숙주 세포는 예컨대, 본 개시내용에 따른, PD-L1 항원-결합 부위, -특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체를 발현하기 위한, 본 개시내용에 따른 백터로 안정적으로 또는 일시적으로 형질주입될 수 있다. 이러한 실시양태에서, 세포는 본원에 기재된 바와 같은 백터로 안정적으로 형질주입될 수 있다.

대안적으로, 세포는 본원에 개시된 바와 같은 항체 또는 항원-결합 단편을 인코딩하는 본 개시내용에 따른 벡터로 일시적으로 형질주입될 수 있다. 현재 개시된 실시양태 중 임의의 것에서, 폴리뉴클레오타이드는 숙주 세포에 대해 이중일 수 있다.

[0214]

따라서, 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체를 이중 발현하는 재조합 숙주 세포를 제공한다. 예를 들어, 세포는 항체가 완전히 또는 부분적으로 수득되는 종 (예컨대, 인간 항체 또는 조작된 인간 항체를 발현하는 CHO 세포)과 상이한 종일 수 있다. 일부 실시양태에서, 숙주 세포의 세포 유형은 자연에서 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체를 발현하지 않는다. 더욱이, 숙주 세포는 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 항체 또는 항원-결합 단편의 천연 상태 (또는 항체 또는 항원 결합 단편이 조작되거나 유래되는 모체 항체의 천연 상태)에서 존재하지 않는 이들의 변이체에 대한 번역-후 변형 (PTM; 예컨대, 글리코실화 또는 푸코실화)을 부여할 수 있다. 이러한 PTM은 기능적 차이 (예컨대, 감소된 면역원성)를 초래할 수 있다. 따라서, 본원에 개시된 바와 같은 숙주 세포에 의해 생산되는 본 개시내용의 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체는 이의 천연 상태에서 항체 (또는 모체 항체)와 구별되는 하나 이상의 번역-후 변형을 포함할 수 있다 (예컨대, CHO 세포에 의해 생산된 인간 항체는 인간으로부터 단리되고/되거나 천연 인간 B 세포 또는 형질 세포에 의해 생산될 때 항체와 구별되는 더 많은 번역-후 변형을 포함할 수 있다).

[0215]

관련된 양태에서, 본 개시내용은 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체를 생산하는 방법을 제공하며, 여기서 방법은 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체를 생산하기에 충분한 조건 하에서 및 시간 동안 본 개시내용의 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함한다. 재조합적으로 생산된 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편, 또는 이들의 변이체를 단리하고 정제하는 데 유용한 방법은 예로서, 재조합 항체를 배양 배지로 분리하는 적합한 숙주 세포/벡터 시스템으로부터 상층액을 수득한 다음, 상업적으로 이용가능한 필터를 사용하여 배지를 농축시키는 단계를 포함할 수 있다. 농축 후, 농축물은 단일의 적합한 정제 매트릭스 또는 일련의 적합한 매트릭스, 예컨대, 친화도 매트릭스 또는 이온 교환 수지에 적용될 수 있다. 하나 이상의 역상 HPLC 단계를 사용하여, 재조합 폴리펩티드를 추가로 정제할 수 있다. 이러한 정제 방법은 또한 이의 자연 환경으로부터 면역원을 단리할 때 사용될 수 있다. 본원에 기재된 단리된/재조합 항체 중 하나 이상의 대규모 생산을 위한 방법은 회분식 세포 배양을 포함하며, 이는 적절한 배양 조건을 유지하기 위해 모니터링 및 제어된다. 가용성 PD-L1 항원-결합 부위, 특이적 항체, 항원-결합 단편 또는 이들의 변이체의 정제는 본원에 기재되고 당업계에 알려져 있으며 국내외 규제 기관의 법률 및 가이드라인을 준수하는 방법에 따라 수행될 수 있다.

[0216]

약학 조성물

[0217]

특정 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 항원-결합 부위, 본 개시내용의 단백질 및/또는 항체, 또는 본 개시내용의 이기능적 단백질 및/또는 항체, 및 약학적으로 허용가능한 희석제(들), 부형제(들) 또는 담체(들)를 포함하는 약학 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시양태에서, 약학 조성물은 추가적인 치료제 (예컨대, 병용 요법)를 포함한다. 약학 조성물은 약학적으로 사용될 수 있는 제제로의 본 개시내용의 항원-결합 부위, 본 개시내용의 단백질 및/또는 항체, 또는 본 개시내용의 이기능적 단백질 및/또는 항체의 가공을 용이하게 하는 부형제 및 보조제를 포함하는 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 담체를 사용하여 통상적인 방식으로 제형화될 수 있다. 적절한 제형은 선택된 투여의 경로에 따라 좌우된다. 임의의 약학적으로 허용가능한 기술, 담체 및 부형제는 본원에 기재된 약학 조성물을 제형화하는 데 적합하게 사용된다: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; 및 Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999). IL-2 조성물의 예는 미국 특허 번호 4,604,377 및 4,766,106에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참조로 인용된다.

[0218]

본원에 사용된 바와 같이, "약학적으로 허용가능한 담체" 및 "생리학적으로 허용가능한 담체"는 상호교환적으로 사용되며, 임의의 및 모든 용매, 완충액, 분산 매질, 코팅, 계면활성제, 항산화제, 보존제 (예컨대, 항박테리아제, 항진균제), 등장제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 항산화제, 단백질, 약물, 약물 안정화제, 중합체, 겔, 바인더, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료, 당업자에게 알려질 것인 바와 같은 이들의 이러한 유사 물질 및 조합을 포함하며, 사용된 투여량 및 농도에서 수용자에게 일반적으로 비-독성인 분자 엔티티 및 조성물, 즉, 적절한 경우 동물, 예컨대, 예를 들어, 인간에 투여될 때 이상 반응, 알레르기성 반응 또는 기타 바람직하

지 않은(untoward) 반응을 생산하지 않는 분자 엔티티 및 조성물이다 (예를 들어, 본원에 참조로 원용된 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329 참고). 임의의 통상적인 담체가 활성 성분과 양립할 수 없는 경우를 제외하고, 치료적 또는 약학 조성물에서의 이의 사용이 고려된다.

[0219] 약학 조성물은 이가 고체, 액체 또는 에어로졸 형태로 투여되는지 여부 및 주사와 같은 이러한 투여의 경로에 대해 별균이 필요한지 여부에 따라 상이한 유형의 담체를 포함할 수 있다. 본 개시내용의 항원-결합 부위, 본 개시내용의 단백질 및/또는 항체, 또는 본 개시내용의 이기능적 단백질 및/또는 항체 (및 임의의 추가적인 치료제)는 정맥내, 피내, 동맥내, 복강내, 병변내, 두개내, 관절내, 전립선내, 비강내, 신장내, 흉막내, 기관내, 비강내, 유리체내, 질내, 직장내, 종양내, 근육내, 복강내, 피하, 결막하, 포낭내(intravesiculary), 점막내, 심낭내, 배꼽밑, 안구내, 경구, 국부, 국소, 흡입 (예컨대, 에어로졸 흡입), 주사, 주입, 연속 주입에 의해, 국소화된 관류 배쓰 표적 세포(localized perfusion bathing target cell)로 직접, 카테터를 통해, 세정을 통해, 크림으로, 지질 조성물로 (예컨대, 리포솜으로), 또는 당업자에게 알려질 것인 바와 같은 다른 방법 또는 전술한 것들의 임의의 조합에 의해 투여될 수 있다 (예를 들어, 본원에 참조로 원용된, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990 참고). 비경구 투여, 특히 정맥내 주사는 본 개시내용의 항원-결합 부위, 본 개시내용의 단백질 및/또는 항체, 또는 본 개시내용의 이기능적 단백질 및/또는 항체와 같은 폴리펩티드 분자를 투여하기 위해 가장 일반적으로 사용된다.

[0220] 치료의 방법 또는 용도

[0221] 일부 실시양태에서, 본원은 본원에 개시된 항원-결합 부위, 본원에 개시된 단백질 또는 항체, 또는 본원에 개시된 이기능적 단백질 또는 항체의 치료적 유효량을 치료를 필요로 하는 대상체에 투여하여, 면역 반응을 조정하는 단계를 포함하는, 치료 방법 또는 용도를 제공한다. 일부 실시양태에서, 면역 반응을 조정하는 단계는 T 세포 활성을 향상시키는 단계 또는 NK 세포 활성을 향상시키는 단계 중 하나 이상을 포함한다. 일부 실시양태에서, 치료의 방법 또는 용도는 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환을 치료하는 것이다. 특정 실시양태에서, 질환은 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 췌장암, 폐암, 교모세포종, 신장 세포 암종 또는 흑색종을 포함한다. 암의 비-제한적인 예는 방광암, 뇌암, 두경부암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 자궁내막암, 식도암, 결장암, 결장직장암, 직장암, 위암, 교모세포종, 전립선암, 혈액암, 피부암, 편평 세포 암종, 피부암, 흑색종, 골암, 신장 세포 암종 및 콩팥암을 포함한다. 전-암성 병태 또는 병변 및 암 전이를 또한 포함한다. 기타 세포 증식 장애는 복부, 뼈, 유방, 소화계, 간, 췌장, 복막, 내분비선 (부신, 부갑상선, 뇌하수체, 고환, 난소, 흉선, 갑상선), 눈, 두경부, 신경계 (중추 및 말초), 림프계, 골반, 피부, 연조직, 비장, 흉부 및 비뇨생식계에 위치한 신생물을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 유사하게, 다른 세포 증식 장애, 예컨대, 고감마글로불린혈증, 림프증식성 장애, 파라단백혈증, 자반증, 유육종증, 세자리 증후군, 발덴스트론(waldenstrom) 마크로글로불린혈증, 고셔병, 조직구증, 및 위에 나열된 기관계에 위치한 신생물 외에 임의의 기타 세포 증식 질환이 또한 치료될 수 있다.

[0222] 일부 실시양태에서, 치료 또는 면역 반응을 조정하는 용도 또는 방법은 하나 이상의 추가적인 치료제 (예컨대, 병용 요법)의 치료적 유효량을 대상체에 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 추가적인 치료제는 항-암제이다. 항-암제의 예는 체크포인트 억제제 (예컨대, 항-PD1 항체), 화학요법제, 종양 미세환경을 억제하는 약제, 암 백신 (예컨대, 시푸류셀-T), 종양용해성 바이러스 (예컨대, 탈리모젠 라허파렙벡(talimogene laherparepvec)), 키메라 항원 수용체를 발현하는 면역 세포, 및 종양 침윤 림프구를 포함한다. 특정 실시양태에서, 추가적인 치료제는 항원 결합 모이어티를 포함하는 분자이다. 구체적인 특정 실시양태에서, 항원 결합 모이어티는 단일 도메인 항체, Fab 분자, scFv, 디아바디, 나노바디, 이중-특이적 T 세포 인게이지 또는 면역글로불린으로부터 선택된다. 특정 실시양태에서, 항원 결합 모이어티는 종양 항원 (예컨대, 암배아 항원, 섬유아세포 활성화 단백질- α , CD20) 또는 체크 포인트 단백질 (예컨대, CTLA-4, PD-1)에 특이적이다. 일부 실시양태에서, 추가적인 치료제는 키메라 항원 수용체를 발현하는 면역 세포, 조작된 T 세포 수용체를 발현하는 면역 세포, 또는 종양 침윤 림프구를 포함한다.

[0223] 다른 실시양태는 아래의 개시내용으로부터 명백할 것이다.

[0224] **실시예**

[0225] 다음의 실시예는 제한이 아닌 예시로 제공된다.

[0226] **실시예 1. 항-PD-L1 항체의 개발**

[0227] 이 실시예는 인간 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항체의 개발 및 특성화를 설명한다.

[0228] Scfv mRNA 디스플레이 스크리닝 및 선택

[0229] mRNA 디스플레이 기술을 10^{12-13} 천연 인간 scFv 라이브러리로부터 PD-L1 바인더의 식별에 사용하였다. 간략하게, DNA 라이브러리를 먼저 mRNA 라이브러리로 전사시킨 다음, 보고된 절차 (미국 특허 번호 6,258,558)와 유사하게 퓨로마이신-링커를 통한 공유 커플링에 의해 mRNA-scFv 융합 라이브러리로 번역시켰다. 융합 라이브러리를 비-특이적 바인더를 제거하기 위해 인간 IgG (음성 단백질)로 먼저 역선택한 후, 재조합 PD-L1-Fc 융합 단백질에 대해 선택한 다음, 단백질 G 자기 비드에 포획하였다. PD-1 및 PD-L1 상호작용을 차단하는 scFv를 강화시키기 위해, PD-1을 활용하여, 단백질 G 비드로부터 PD-L1 바인더와 경쟁 제거하고, 바인더를 라이브러리 특이적 올리고를 이용하여 PCR 증폭에 의해 강화시켰다. 스크리닝을 위해 고도로 강화된 PD-L1 결합 풀을 생성하기 위해 실행된 총 4 라운드의 선택.

[0230] 항-PD-L1 scFv의 식별 및 특성화

[0231] 4 라운드의 선택 후, PD-L1 강화된 scFv 라이브러리를 박테리아 주변세포질 발현 벡터 pET22b에 클로닝하고, TOP10 적격 세포로 형질전환하였다. scFv 분자 각각을 정제 및 검정 검출을 위해 C-말단 플래그 및 6xHis 태그를 갖도록 조작하였다. TOP10 세포로부터의 클론을 풀링하고, 미니프랩 DNA를 제조하고, 후속적으로 발현을 위해 박테리아 Rosetta II 균주로 형질전환시켰다. 단일 클론을 고르고, 성장시키고, 발현을 위해 96 웰 플레이트에서 0.1 mM IPTG로 유도하였다. 항-PD-L1 scFv를 식별하기 위한 검정을 위해 30°C에서 16-24 시간 유도 후에 상층액을 수집하였다.

[0232] PD-L1 결합 스크리닝 ELISA는 개별 항-PD-L1 scFv의 식별을 위해 개발되었다. 간략하게, 384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1X PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도로 인간 Fc 및 인간 PD-L1-Fc로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 후, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 25 μ L의 상층액을 인간 Fc 및 인간 PD-L1-Fc 고정화 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. PD-L1 결합을 1X PBST에서 1:5000으로 희석된 25 μ L의 항-FLAG HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트 세척기에 1X PBST로 플레이트를 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 20 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 20 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 중지시켰다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독하고, 결합 및 선택성을 Excel 막대 그래프로 분석하였다. 인간 Fc 대조군과 비교하여 2-배 초과 PD-L1 표적 결합을 갖는 클론을 DNA 시퀀싱에 적용하였다. 추가 특성화를 위해 고유의 클론을 생산하고 정제하였다.

[0233] 대장균에서의 ScFv 생산

[0234] 명시된 항-PD-L1 클론을 글리세롤 스톱 플레이트로부터 고르고, 통기성 막이 있는 Thomson 24-웰 플레이트에서 5 mL 배양물로 밤새 성장시켰다. 이 배양물 및 아래에 기재된 모든 후속 배양물을 Terrific Broth Complete + 100 μ g/mL 카르베니실린 및 34 μ g/mL 클로람페니콜에서 225 rpm으로 진탕하면서 37°C에서 성장시키고, 달리 명시되지 않는 한, 소포제-204의 1:5,000 희석물을 또한 첨가하였다. 그런 다음, 이 밤새 스타터 배양물을 사용하여 더 큰 배양물, 스타터 배양물의 1:100 희석물을 지정된 생산 배양물에 접종하고, OD600이 0.5-0.8 사이가 될 때까지 성장시켰다. 이 지점에서, 배양물을 0.1 mM의 IPTG의 최종 농도로 유도시키고, 밤새 30°C에서 항온처리하였다. 다음날, 배양물을 5,000 x g에서 30 분 동안 원심분리하여, 세포를 펠릿화한 다음, 상층액을 0.2 μ m 멸균 PES 막을 통해 필터 멸균하였다.

[0235] 정제를 위해, 여과된 상층액 1 mL 당 3 μ L Ni Sepharose Excel 수지 (GE Healthcare)를 사용하였다. 일회용 10 mL 또는 20 mL BioRad Econo-Pac 컬럼을 사용하였다. 수지를 20 컬럼 부피 (CV) 이상의 완충액 A (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl이 첨가됨)로 평형화시켰다. 필터 멸균된 상층액을 흐름을 1 mL/분으로 제어하거나 동일한 패킹된 수지 베드에 2 회에 걸쳐 부어, 중력 흐름에 의해 정제하였다. 그런 다음, 컬럼을 완충액 10 CV 완충액 A 및 20 CV 완충액 B (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl 및 30 mM 이미다졸 포함)로 세척하였다. 필요한 경우, 2 개의 Detox 완충액을 임의적 단계로서 내독소를 제거하는 데 사용하였다. 250 mL 발현 배양 정제를 위해, 항체 결합 컬럼을 20 CV 완충액 C (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl 포함, 1% TX114), 20 CV 완충액 D (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl 포함, 1% TX100 + 0.2% TNBP) 및 40 CV 완충액 E (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl 포함)로 순차적으로 세척하였다. 총 6 개의 분획 (0.5 CV 사전 용출, 5 x 1 CV 용출)에서 용출 완충액 F (1X PBS, pH 7.4, 500 mM까지 추가의 NaCl 및 500 mM 이미다졸 포함)로 단백질을 용출하였다. 분획을 Bradford 검정 (100 μ L 희석된 Bradford 용액 + 10 μ L 샘플)에서 실행시켰다. 밝은 청색을 갖는 분획을 풀링하였다. 단백질 농도를 A280 연장 계수에 의해 측정하였다. SDS-PAGE 겔을

사용하여, 정제된 항체의 순도를 분석하였다. 대부분의 경우, 정제된 항체의 열 안정성을 측정하기 위해 열 이동 검정을 수행하였다.

[0236] PD-L1 결합 ELISA

[0237] 항-PD-L1 scFv의 EC₅₀을 결정하기 위해 ELISA 검정을 개발하였다. 간략하게, 384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1X PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도로 인간 PD-L1-Fc로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 다음, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 정제된 항-PD-L1 scFv를 200 nM로부터 2-배 연속 적정하였다. 25 μ L를 인간 PD-L1 고정화된 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. PD-L1 결합을 1X PBST에서 1:5000으로 희석된 25 μ L의 항-FLAG HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트를 플레이트 세척기에서 1X PBST로 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 20 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 20 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 중지시켰다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독한 다음, Prism 8.1 소프트웨어에서 플롯팅하였다. EC₅₀을 계산하고, 표 8에 나타내었다. 도 1은 선택된 scFv에 대한 PD-L1 결합 ELISA 곡선을 도시한다.

[0238] 표 8. 항-PD-L1 scFvs 결합 ELISA에 대한 EC₅₀ 값.

scFv	EC ₅₀ (nM)
2018EP161-G08	1.161
2018EP161-F08	1.152
2018EP170-E06	157.7
2018EP171-H02	0.4292
2018EP172-F10	0.6152
2018EP164-F04	1.271
2018EP161-F04	ND
2018EP280-E04	NA
2018EP173-H11	NA
2018EP280-E01	8.095

ND: 결정되지 않음.

NA: 이용가능하지 않음.

[0239] SPR에서 PD-L1에 결합하는 ScFv

[0240] 항-PD-L1 scFv의 운동학적 분석을 Biacore T200을 이용한 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 기술에 의해 평가하였다. 검정을 Biacore T200 제어 소프트웨어 버전 2.0으로 실행하였다. CM5 센서 칩의 유동 세포 1 및 2에 항-인간 Fc 항체를 고정화하였다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 인간 PD-L1-Fc 단백질을, 항-hFc 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ l/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. 2-배 연속 희석된 HIS 태그 정제된 항-PD-L1 scFv를 참조 유동 세포 1 및 PD-L1-Fc 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ l/분의 유속으로 150 초 동안 주사한 후, 300 초 동안 세척하였다. 그런 다음, 유동 세포를 30 μ l/분의 유속으로 30 초 동안 항체 재생 완충액 (GE Healthcare)으로 재생시켰다. 96 웰 플레이트에서 항-PD-L1 scFv당 300 nM-0 nM로부터의 8 개의 농도 지점을 검정하였다. PD-L1 단백질에 결합하는 scFvs의 동역학을 Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 PD-L1 포획된 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 뺄셈으로부터 도출하였다. 선택된 scFv의 결합 동역학 (K_a , K_d 및 K_D)을 센서그램 분석으로부터 결정하고, 표 9에 나타내었다.

표 9. SPR에서 PD-L1에 대한 항-PD-L1 scFv 결합의 동역학 매개변수.

scFv	K_a (1/ms)	K_d (1/s)	K_D (M)
2018EP161-G08	NA	NA	NA
2018EP161-F08	2.51E+05	1.25E-03	4.97E-09
2018EP170-E06	NA	NA	NA
2018EP171-H02	1.06E+06	1.90E-03	1.81E-09
2018EP172-F10	9.29E+05	1.99E-03	2.14E-09
2018EP164-F04	2.45E+05	7.22E-04	2.94E-09
2018EP161-F04	NA	NA	NA
2018EP280-E04	NA	NA	NA
2018EP173-H11	NA	NA	NA
2018EP280-E01	NA	NA	NA

FACS에서 세포 표면 PD-L1에 결합하는 ScFv

K562 세포 (ATCC)를 pCMV6-진입 벡터에서 C-말단 FLAG 및 Myc 태그를 갖는 전장 인간 PD-L1을 인코딩하는 작제 물로 형질주입시켰다. G418 약물 선택 공정은 PD-L1 표적-발현 세포의 다클론, 약물 저항성 풀을 산출하였다. 병행하여, 빈 벡터로 형질주입된 모체 계통을 음성 대조군으로서 생성하였다. PD-L1 표적-발현 세포를 FACS로 분류하여, PD-L1 표적 발현 다클론 풀을 산출하였다. 풀을 G418 약물 선택 하에서 확장시켰다. 그런 다음, 단일 세포 분류를 수행한 후, 추가 약물 선택을 수행하여, 클론 세포주를 형성하였다. 클론 계통을 FACS에 의해 PD-L1 발현에 대해 스크리닝하였다. 이어서, 고 발현 PD-L1 세포주를 스크리닝 및 검정에 사용하였다.

항-PD-L1 scFv가 PD-L1 발현 세포에 결합하는지 여부를 결정하기 위해, 200 nM의 정제된 항-PD-L1 scFv를 전체 배지에 희석하고, PD-L1/K562 및 K562 세포와 함께 96 웰 플레이트에서 얼음 위에서 1 시간 동안 항온처리하였다. 세포를 4℃에서 5 분 동안 1200 rpm으로 스핀 다운시켜, 일차 항체를 제거하였다. 그런 다음, 세포를 웰당 200 μ L의 전체 배지로 1 회 세척하였다. 100 μ L의 희석된 이차 항체를 첨가함으로써 사전혼합된 항-His 비오티 스킨스트랩타비딘 Alexa Fluor 647로 샘플을 검출하고, 암흑에서 30 분 동안 4℃에서 항온처리하였다. 샘플을 4℃에서 5 분 동안 1200 rpm으로 스핀 다운시키고, 웰당 200 μ L의 1X PBS로 2 회 세척하였다. 샘플을 200 μ L의 1X PBS에서 재구성하고, Attune NxT 세포측정기에서 판독하였다. 분석을, 음성 및 표적 세포주 둘 모두에 결합하는 항-PD-L1 scFv의 오버레이 히스토그램을 플롯팅하는 Attune NxT 소프트웨어에 의해 수행하였다. 선택된 scFv에 대한 세포 표면 PD-L1 결합 EC50을 계산하고, 표 10에 나타내었다. 도 2a-b는 선택된 scFv에 대한 PD-L1/K562 세포 표면 결합 FACS 곡선을 도시한다.

표 10. 높은 수준의 세포 표면 인간 PD-L1을 발현하도록 조작된 K562 세포에 결합하는 항-PD-L1 scFv의 EC50 값.

	PD-L1/K562 결합 FACS EC50 (nM)
2018EP161-G08	NA
2018EP161-F08	7.72
2018EP170-E06	35.9
2018EP171-H02	0.2498
2018EP172-F10	<1
2018EP164-F04	<1
2018EP161-F04	5.8
2018EP280-E04	5.509
2018EP173-H11	5.102
2018EP280-E01	10.83

HTRF에서 PD-L1 및 PD-1 상호작용에 대한 scFv 경쟁

PD-1/PD-L1 TR-FRET (HTRF) 검정 키트 (BPS, 72038)를 사용하여 항-PD-L1 scFv에 의한 PD-1 중화 활성을 평가 하였다. 간략하게, 1X 면역 완충액 1을 만들었다. 염료-표지된 수용체, PD-1-Eu, 비오티닐화된 PD-L1 및 scFv를 완충액 1로 희석하였다. 384-웰 플레이트의 각각의 웰에 대해, 제조업체의 권장 부피에 따라 일련의 희석된 scFv 및 시약을 첨가하였다. 샘플을 실온에서 1.5 시간 동안 항온처리한 다음, 검정을 위해 제조업체의 기기 설

정을 사용하여 Biotek Neo2 플레이트 판독기로 형광 세기를 판독하였다. 665 nm 방출/620 nm 방출의 TR-FRET 비를 사용하여 데이터 분석을 수행하고, Prism 8.0으로 플롯팅하였다. 선택된 scFv에 대한 PD-1 및 PD-L1 경쟁 IC50을 계산하고, 표 11에 나타내었다. 도 3a-b는 선택된 scFv에 대한 PD-1 및 PD-L1 경쟁 결과를 도시한다.

표 11. scFv에 대한 PD-1 및 PD-L1 경쟁의 HTRF IC50.

	PD-1 및 PD-L1 HTRF IC50 (nM)
2018EP161-G08	NA
2018EP161-F08	90.79
2018EP170-E06	NA
2018EP171-H02	91.85
2018EP172-F10	96.97
2018EP164-F04	172.9
2018EP161-F04	NA
2018EP280-E04	38.51
2018EP173-H11	NA
2018EP280-E01	76.80

Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정의 ScFv

항-PD-L1 scFv의 PD-1 중화 활성을 PD-1/PD-L1 차단 생물검정 키트 (Promega, J1250)를 사용한 세포 검정에서 또한 평가하였다. 제조업체의 프로토콜에 따라, PD-L1 aAPC/CHOK1 세포를 해동하고, 백색의 평평한 바닥 검정 플레이트에 플레이팅하였다. 세포를 CO₂ 5%와 함께 37°C에서 밤새 항온처리하였다. 다음날, 각각의 웰로부터 배지를 제거하였다. PD-L1 scFv 클론을 500 nM로부터 시작하여 5 배 연속 희석하고, 40 µL의 2X 농도의 희석된 scFv 및 대조군을 세포에 첨가하였다. PD-L1 세포 표면에 대한 scFv 결합을 허용하기 위해 플레이트를 37°C에서 30 분 동안 항온처리하였다. PD-1 이펙터 세포를 제조업체의 프로토콜에 따라 해동하고, 40 µL를 항-PD-L1 scFv를 갖는 PD-L1 aAPC/CHOK1 세포를 함유하는 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 37°C, 5% CO₂에서 16 시간 동안 항온처리하였다. 그런 다음, 검정 플레이트를 실온에서 10 분 동안 평형화하였다. 80 µL의 실온 Bio-Glo 시약을 각각의 웰 및 대조군 웰에 첨가하였다. 플레이트를 30 분 동안 진탕하면서 실온에서 항온처리하고, 광으로부터 이를 보호하였다. 발광을 Biotek Neo2 플레이트 판독기로 정량화하고, Prism 8.0 소프트웨어로 플롯팅하였다. 선택된 scFv에 대한 NFAT 리포터 검정 EC50을 계산하고, 표 12에 제공하였다. 도 4는 리포터 검정 결과를 도시한다.

표 12. 항-PD-L1 scFv에 대한 Jurkat NFAT 리포터 검정의 EC50 값.

서열 ID	EC50 (nM)
2018EP164-F04	129.3
2018EP280-E01	399.9
2018EP172-F10	365.1
2018EP161-F08	426.7
2018EP170-E06	NA
2018EP161-G08	NA
2018EP161-F04	NA
2018EP173-H11	NA
2018EP280-E04	133.0
2018EP171-H02	115.3

항-PD-L1 scFv 2018EP171-H02의 친화도 성숙

항-PD-L1 scFv의 친화도 및 생물학적 활성을 추가로 개선시키기 위해, 2018EP171-H02의 합리적으로 설계된 HCDR3 돌연변이유발 scFv 라이브러리를 작제하고, 엄격한 선택 조건을 적용하였다. HCDR3 (서열번호 46) 잔기를 70% 대 30%의 WT 대 돌연변이체의 비로 돌연변이화하였다, gtg tat tac tgt gcg aga gat aaa ggg tat ggc agt ggc tgg agg ggt gac tac tgg ggc cag gga (서열번호 190). 돌연변이유발 라이브러리를 프레임워크 및 VL을 이용한 중첩 PCR에 의해 작제하였다. mRNA 디스플레이를 사용하여, 2 라운드의 선택을 통해 더 높은 친화도 scFv 바인더를 강화시켰다. 제1 라운드를 PD-L1의 천연 에피토프에 결합하는 분자를 보장하기 위해 PD-L1/CHOK1 세포 주에서 선택하였다. 제2 라운드는 10 nM PD-L1-Fc 단백질과 결합한 후, 경쟁자로서 500 nM의 고정화된 PD-L1의

존재 하에 16 시간 동안 오프-라이트 선택을 수행하였다. 더 약한 바인더와 함께 고정화된 PD-L1을 제거하였다. 더 높은 친화도 scFv 바인더를 갖는 PD-L1 Fc를 단백질 G 비드로 포획하고, 용출 제거하고 PCR 증폭시켰다.

[0259] 2 라운드의 돌연변이유발성 라이브러리 선택 후, 풀을 pET22b 벡터에 클로닝하고, 위에 기재된 바와 같이 스크리닝하였다.

[0260] 선택된 친화도 성숙된 scFv 클론에 대한 생산, 결합 및 모든 특성화 검정을 위에 기재된 바와 같이 수행하였다. 데이터를 분석하고, ELISA 결합에 대해 표 13, SPR 동역학 분석에 대해 표 14, PD-L1/K562 세포 표면 FACS 결합에 대해 표 15, 및 Jurkat NFAT 리포터 검정 표면 PD-L1 결합 결과에 대해 표 16에 제공하였다. 도 5는 ELISA 결합 결과를 도시한다. 도 6은 PD-L1/K562 세포 표면 FACS 결합을 도시한다. 도 7은 PD-1 및 PD-L1 경쟁 HTRF 결과를 도시한다. 도 8은 선택된 최적화된 scFv에 대한 Jurkat NFAT 리포터 검정 결과를 도시한다.

[0261] 표 13. 항-PD-L1 scFv 결합 ELISA의 EC50 값.

서열 ID	PD-L1 결합 ELISA (nM)
2018EP171-H02	0.4292
2019EP69-E02	NA
2019EP69-E10	0.4352
2019EP69-C05	0.5073
2019EP69-F02	0.5447
2019EP69-B01	NA
2019EP69-H10	0.5004
2019EP69-F03	0.6963

[0262]

[0263] 표 14. SPR에서 PD-L1에 대한 항-PD-L1 scFv 결합의 동역학 매개변수.

	K_a (1/ms)	K_d (1/s)	K_D (M)
2018EP171-H02	7.09E+05	1.753E-3	2.47E-09
2019EP69-E02	NA	NA	NA
2019EP69-E10	1.16E+06	1.137E-3	9.83E-10
2019EP69-C05	1.76E+06	4.541E03	2.58E-09
2019EP69-F02	3.93E+05	2.44E-04	6.22E-10
2019EP69-B01	NA	NA	NA
2019EP69-H10	9.41E+05	1.226E-3	1.30E-09
2019EP69-F03	1.24E+06	9.87E-05	7.97E-11

[0264]

[0265] 표 15. 높은 수준의 세포 표면 인간 PD-L1을 발현하도록 조작된 K562 세포에 결합하는 항-PD-L1 scFv의 EC50 값.

서열 ID	PD-L1 결합 FACS (nM)
2018EP171-H02	0.25
2019EP69-E02	NA
2019EP69-E10	0.207
2019EP69-C05	0.221
2019EP69-F02	2.004
2019EP69-B01	NA
2019EP69-H10	0.0799
2019EP69-F03	0.115

[0266]

표 16. 항-PD-L1 scFv에 대한 Jurkat NFAT 리포터 검정의 EC50 값.

서열 ID	Jurkat NFAT 리포터 검정 EC50 (nM)
2019EP69-E02	NA
2019EP69-E10	96.07
2019EP69-C05	~61.09
2019EP69-F02	78.52
2019EP69-H10	97.71
2019EP69-F03	122.7

실시예 2. 항체 및 이기능적 항체 구조

2019EP69-F03의 가변 VH 및 VL 서열을 인간 중쇄 IgG1 백본 및 경쇄 람다 백본 (각각 EP206 및 EP205)의 불변 프레임 서열에 융합하여, 항-PD-L1 단클론 항체를 생성하였다.

항-PD-L1/IL-15 융합 이기능적 항체를 생성하기 위해, 항-PD-L1의 하나의 중쇄의 C-말단을 (G₄S)₄ 링커로 인간 IL-15 (50-162)[P40933]에 융합시켰다. S354C, T366W 및 K409A 돌연변이 (Wei *et al.*, *Oncotarget*, 2017; Xu *et al.*, *mAbs*, 2015)를 도입하여, 쇠를 놓 분자 (EP203)로 만들었다. 항-PD-L1의 다른 중쇄의 C-말단을 (G₄S)₄ 링커로 인간 IL-15R α (31-97)[Q13261]에 융합시켰다. Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이 (Wei *et al.*, *Oncotarget*, 2017; Xu *et al.*, *mAbs*, 2015)를 도입하여, 쇠를 홀 분자 (EP204)로서 만들었다. 경쇄 EP205를 사용하여, 각각 놓 및 홀 항-PD-L1 쇠와 쌍형성시켰다.

다른 경우에, 2019EP69-F03의 전체 scFv 쇠를 인간 중쇄 IgG1 백본의 불변 Fc 프레임 서열에 융합시켰다. scFv-Fc 분자 중 하나의 C-말단은 (G₄S)₄ 링커로 인간 IL-15 (50-162)[P40933]에 융합시켰다. 이 분자는 놓 분자로서 S354C, T366W 및 K409A 돌연변이를 운반하였다. 다른 scFv-Fc 분자의 C-말단을 (G₄S)₄ 링커 (EP207)로 인간 IL-15R α (31-97)[Q13261]에 융합시켰다. 이 분자는 홀 분자 (서열 EP208)로서 Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이를 운반하였다. 보체 결합 및 Fc- γ 의존적 항체-의존적 세포-매개된 세포독성 (ADCC) 효과를 제거하기 위해 놓 및 홀 분자 둘 모두에 L234A, L235A 및 P329G 돌연변이를 도입하였다 (Lo *et al.*, *JBC* 2017).

다른 예에서, S354C, T366W 및 K409A 돌연변이를 항-PD-L1 서열 (예컨대, EP205)의 중쇄에 도입하여, 놓 분자 (예컨대, EP362)를 생성하였다. 조작된 IL-2 폴리펩티드를 인코딩하는 단백질 서열을 (G₄S)₄ 링커로 항-PD-L1 서열 (예컨대, EP205)의 중쇄의 불변 프레임 서열의 C-말단 부위에 융합시켰다. Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이를 도입하여, 쇠를 홀 분자 (예컨대, EP363, EP364, EP365)로서 만들었다. 특정 실시양태에서, 보체 결합 및 Fc- γ 의존적 항체-의존적 세포-매개된 세포독성 (ADCC) 효과를 제거하기 위해 Fc에 L234A, L235A 및 P329G 돌연변이를 도입하였다 (Lo *et al.*, *JBC* 2017).

다양한 형식으로, 항-PD-L1의 하나의 중쇄의 C-말단을 (G₄S)₄ 링커로 인간 IL-15 (50-162)에 융합시켰다. S354C, T366W 및 K409A 돌연변이를 도입하여, 쇠를 놓 분자 (예컨대, EP203)로서 만들었다. 항-PD-L1의 다른 중쇄의 C-말단을 (G₄S)₄ 링커로 인간 IL-15R α (31-97)에 융합시켰다. Y349C, T366S, L368A, F405K 및 Y407V 돌연변이를 도입하여, 쇠를 홀 분자 (예컨대, EP204)로서 만들었다. 보체 결합 및 Fc- γ 의존적 항체-의존적 세포-매개된 세포독성 (ADCC) 효과를 제거하기 위해 놓 및 홀 분자 둘 모두에 L234A, L235A 및 P329G 돌연변이를 도입하였다 (Lo *et al.*, *JBC* 2017). 경쇄 EP205를 사용하여, 각각 놓 및 홀 항-PD-L1 쇠와 쌍형성시켰다.

그런 다음, 위에 설계된 전체 서열을 인코딩하는 DNA를 포유동물 세포 발현에 최적화된 코돈으로 합성하고, pCDNA3.4 (Invitrogen)에 서브클로닝하였다. 도 9는 선택된 항-PD-L1 항체에 대한 형식의 개략도를 도시한다.

실시예 3. IL-2-FC 및 항체 생산

항-PD-L1 단클론 항체를 1:2의 중쇄 및 경쇄의 플라스미드 DNA의 비를 갖는 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템(free style system)(Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에서 일시적으로 발현시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH 2.5 + 150 mM NaCl로 용출하고, 20 mM 시트레이트 pH 5.0 + 300 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 Superdex 200 16/600 컬럼을 사용하여 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은

10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 20 mM 히스티딘 pH 6.0 + 150 mM NaCl에 보관하였다.

[0278] 항-PD-L1/IL-15 이기능적 융합 항체 생산을 위해, 각각의 IgG1 백본 형식의 "놈" 및 "홀" 작제물을 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템 (Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH2.5 + 150 mM NaCl로 용출하고, 20 mM 시트레이트 pH 5.0 + 300 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 Superdex 200 증가 16/600 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고, 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은 10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 1X PBS 완충액에 보관하였다.

[0279] 1가 IL-2-Fc 융합 단백질 생산을 위해, 각각의 IgG1 백본 형식의 "놈" 및 "홀" 작제물을 1:1의 비로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 세포를 5 일 동안 성장시키고, 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. Fc 융합 작용제를 먼저 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH2.5 + 150 mM NaCl로 용출하고, 20 mM 시트레이트 pH 5.0 + 300 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 작용제 단백질을 1 mL까지 농축시키고, Superdex 200 16/600 겔 여과 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고, 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은 10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 1X PBS에 보관하였다. 정제된 1가 IL-2-Fc 융합 작용제를 SDS 겔 (4-12% Bis-Tris Bolt 겔, MES 실행 완충액 포함)에서 실행시켰다.

[0280] 1가 (Fab 형식의) 항-PD-L1/IL-2 이기능적 항체 생산을 위해, 상응하는 경쇄 작제물과 함께 각각의 IgG1 백본 형식의 "놈" 및 "홀" 작제물을 1:4:4의 놈:홀:경쇄의 비를 갖는 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템 (Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH 2.5 + 150 mM NaCl로 용출시키고, 20 mM 히스티딘 pH 5.0 + 150 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 Superdex 200 16/600 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고, 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은 10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCl 완충액에 보관하였다.

[0281] 1가 (scFv 형식의) 항-PD-L1/IL-2 이기능적 항체 생산을 위해, 각각의 IgG1 백본 형식의 "놈" 및 "홀" 작제물을 1:2의 놈:홀의 비를 갖는 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템 (Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH 2.5 + 150 mM NaCl로 용출시키고, 20 mM 히스티딘 pH 5.0 + 150 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 Superdex 200 16/600 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고, 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은 10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCl 완충액에 보관하였다.

[0282] 2가 (Fab 형식의) 항-PD-L1/IL-2 이기능적 항체 생산을 위해, 상응하는 경쇄 작제물과 함께 각각의 IgG1 백본 형식의 "놈" 및 "홀" 작제물을 1:2:2의 놈:홀:경쇄의 비를 갖는 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템 (Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 MabSelect Prisma 단백질 A 수지 (GE Health)에 의해 정제하였다. 단백질을 100 mM Gly pH 2.5 + 150 mM NaCl로 용출시키고, 20 mM 히스티딘 pH 5.0 + 150 mM NaCl로 빠르게 중화시켰다. 그런 다음, 항체를 Superdex 200 16/600 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 단량체성 피크 분획을 풀링하고, 농축시켰다. 최종 정제된 단백질은 10 EU/mg 미만의 최종 내독소 수준을 가졌고, 이를 20 mM 히스티딘, 150 mM NaCl 완충액에 보관하였다.

[0283] 항-PD-L1/IL-2 융합 항체 생산을 위해, 작제물을 표준 프로토콜에 따라 프리 스타일 시스템 (Invitrogen)으로 ExpiHEK293-F 세포에 형질주입시켰다. 수확 전 5 일 동안 세포를 성장시켰다. 상층액을 원심분리에 의해 수집하고, 0.2 μ m PES 막을 통해 여과하였다. 항체를 제조업체의 프로토콜에 따라 Ni-Sepharose (GE Healthcare) 친화도 컬럼에 의해 정제하였다. 항체를 Superdex 200 16/600 컬럼에 의해 추가로 정제하였다. 작용제의 높은 균질 단량체성 피크 분획을 각각 풀링하고, 농축시켰다. 최종 내독소 수준은 10 EU/mg 미만이었다. 결합 및 기능적 분석을 위해 단백질을 각각 1X PBS 완충액에 보관하였다.

[0284] 실시예 4. 항-PD-L1 항체 IGG 특성화

[0285] ELISA에서 PD-L1에 결합하는 항-PD-L1 IgG 항체

[0286] 항-PD-L1 IgG 항체의 EC50을 결정하기 위해 ELISA 검정을 개발하였다. 간략하게, 384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1x PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도로 인간 PD-L1-HIS 태깅된 재조합 단백질로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 후, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 200 nM의 2 배 연속 희석에서 시작하여 정제된 PD-L1 IgG의 적정, 25 μ L를 인간 PD-L1 고정화된 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. PD-L1 결합을, 1X PBST에서 1:5000으로 희석된 25 μ L의 항-hFc HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트를 플레이트 세척기에서 1X PBST로 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 20 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 20 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 중지시켰다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독한 다음, Prism 8.1 소프트웨어에서 플롯팅하였다. 표 17은 항-PD-L1 IgG 항체에 대한 ELISA 결합 EC50을 도시한다.

[0287] 표 17. 항-PD-L1 IgG 항체에 대한 ELISA 결합 EC50.

항체	작제물 쌍	PD-L1 결합 ELISA (nM)
PD-L1	EP205/EP206	0.1635
아테졸리주맙	-	0.1571

[0288] SPR에서 PD-L1에 대한 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 동역학

[0290] Biacore T200을 이용한 SPR 기술에 의해 항-PD-L1 IgG의 동역학 분석을 평가하였다. 검정을 Biacore T200 제어 소프트웨어 버전 2.0으로 실행하였다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 항-hPD-L1-IgG를, 단백질 A 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ l/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. 2-배 연속 hPD-L1-HIS 태깅된 단백질을 참조 유동 세포 1 및 항-PD-L1 IgG 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ l/분의 유속으로 150 초 동안 주사한 다음, 300 초 동안 세척하였다. 그런 다음, 유동 세포를 30 μ l/분의 유속으로 60 초 동안 글리신 pH 2로 재생시켰다. 96 웰 플레이트에서 항-PD-L1 IgG당 100 nM-0 nM으로부터의 8 개의 농도 지점을 검정하였다. PD-L1 단백질에 결합하는 항-PD-L1 IgG의 동역학을 Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 항체 포획된 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 백분율로부터 도출하였다. 아래 표 18은 SPR에 의한 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 동역학을 도시한다.

[0291] 표 18. SPR에 의한 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 동역학.

항체	작제물 쌍	K_{on}	K_{off}	K_D (nM)
2019EP69-F03	EP205/EP206	9.561E+5	3.472E-4	3.631E-10
2018EP164-F04	EP480/EP481	1.245E+5	7.142E-4	5.734E-9
2018EP280-E04	EP486/EP489	2.741E+5	7.565E-4	2.760E-9
2018EP171-H02	EP488/EP489	4.093E+5	0.003889	9.501E-9
아테졸리주맙	-	NA	NA	NA

[0292] NA: 이용가능하지 않은 데이터

[0293] FACS에서 세포 표면 PD-L1에 결합하는 항-PD-L1 IgG 항체

[0294] 200 nM의 정제된 항-PD-L1 IgG 항체를 전체 배지에 희석하고, 96 웰 플레이트에서 PD-L1/K562 및 K562 세포와 함께 얼음 위에서 1 시간 동안 항온처리하였다. 세포를 4°C에서 5 분 동안 1200 rpm으로 스핀 다운시켜, 일차 항체를 제거하였다. 그런 다음, 세포를 웰당 200 μ L의 전체 배지로 1 회 세척하였다. 100 μ L의 희석된 이차 항체를 첨가함으로써 항-hFc Alexa Fluor 647로 샘플을 검출하고, 암흑에서 30 분 동안 4°C에서 항온처리하였다. 샘플을 4°C에서 5 분 동안 1200 rpm으로 스핀 다운시키고, 웰당 200 μ L의 1X PBS로 2 회 세척하였다. 200 μ L의 1X PBS에서 샘플을 재구성하고, Attune NxT 세포측정기에서 판독하였다. 분석을, 음성 및 표적 세포주 둘 모두에 결합하는 항-PD-L1 항체의 오버레이 히스토그램을 플롯팅하는 Attune NxT 소프트웨어에 의해 수행하였다.

[0295] HTRF 검정에서 PD-L1 및 PD-1 상호작용에 대한 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 경쟁 및 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정에서 면역 세포의 활성화는 scFv 특성화에 기재된 것과 동일하였다. 아래 표 19는 Jurkat 세포 리포터 검정 EC50, PD-L1/K562 세포 표면 결합 EC50 및 HTRF PD-1, 및 IgG 항체에 대한 PD-L1 경쟁 결과를 도시한다. 도 10은 PD-L1/K562 세포 표면 FACS 결합 결과를 도시한다.

[0296] 표 19. Jurkat 세포 리포터 검정 EC50, PD-L1/K562 세포 표면 결합 EC50, 및 IgG 항체에 대한 HTRF PD-1 및 PD-L1 경쟁 결과.

항체	작제물 쌍	Jurkat 리포터 검정 EC50 (nM)	HTRF IC50 (nM)	PD-L1/K562 FACS EC50 (pM)
PD-L1	EP205/EP206	0.55	128	6.68
아테졸리주맙	-	0.355	8	0.73

[0297]

[0298] 실시예 5. 항-PD-L1/IL-15 융합 항체 특성화

[0299] ELISA에서 PD-L1 및 IL-15 수용체에 대한 항-PD-L1/IL-15 결합

[0300] 항-PD-L1 항체의 EC50을 결정하기 위해 ELISA 검정을 개발하였다. 간략하게, 384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1X PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도의 인간 IL-15R α -His 태깅된 또는 PD-L1 HIS 태깅된 단백질로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 후, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 정제된 항-PD-L1/IL-15를 200 nM로부터 3-배 연속 적정하였다. 25 μ L를 인간 PD-L1/IL-15 고정화된 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. IL-15 또는 PD-L1 결합을 1x PBST에서 1:10000으로 희석된 25 μ L의 항-인간 HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트를 플레이트 세척기에서 1X PBST로 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 20 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 20 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 정지시켰다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독한 다음, Prism 8.1 소프트웨어에서 플롯팅하여, EC50을 계산하였다. 표 20은 항체에 대한 PD-L1 ELISA 결합 EC50을 도시한다.

[0301] 표 20. ELISA에서 PD-L1 및 IL-15 수용체에 대한 항-PD-L1/IL-15 결합.

이기능적	작제물 쌍	PD-L1 결합 ELISA (nM)
PD-L1-Fab/IL-15	EP203/EP204/EP205	0.061
PD-L1-scFv/IL-15	EP207/EP208	0.11

[0302]

[0303] SPR에서 IL-2R β 및 PD-L1에 대한 항-PD-L1/IL-15의 결합 동역학

[0304] IL-15R β 및 PD-L1에 대해 이기능적인 항-PD-L1-IgG/IL-15 및 항-PD-L1-scFv-Fc/IL-15의 동역학적 분석을 Biacore T200을 이용한 SPR 기술에 의해 평가하였다. 참고로, IL-15 수용체는 IL-2 수용체와 동일한 베타 서브 유닛을 공유한다. 따라서, IL-15R β 는 IL-2R β 및 CD122로서 또한 지칭된다. 검정을 Biacore T200 제어 소프트웨어 버전 2.0으로 실행하였다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 항-hPD-L1-IgG/IL-15 또는 항-PD-L1 scFv-Fc/IL-15를, 단백질 A 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. 2-배 연속 희석된 IL-15R β -HIS 또는 hPD-L1-HIS 태깅된 단백질을 참조 유동 세포 1 및 항-PD-L1/IL-15 이기능적 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ L/분의 유속으로 150 초 동안 주사한 후, 300 초 동안 세척하였다. 그런 다음, 유동 세포를 30 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 글리신 pH 2로 재생시켰다. 100 nM-0 nM (IL-15R β -HIS) 또는 300 nM-0 nM (PD-L1-HIS)로부터의 8 개의 농도 지점을 96 웰 플레이트에서 항-PD-L1 IgG에 대하여 검정하였다. IL-15R β 및 PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1/IL-15 이기능적 결합의 동역학을 Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 항체 포획된 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 뺄셈으로부터 도출하였다. 표 21은 IL-2R β 및 PD-L1에 대한 항-PD-L1/IL-15의 결합 동역학에 대한 결과를 도시한다.

표 21. SPR에서 IL-2R β 및 PD-L1에 대한 항-PD-L1/IL-15의 결합 동역학.

항체	작제물 쌍	IL-2R β 결합 SPR			PD-L1 결합 SPR		
		k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (M)
PD-L1-Fab/IL-15	EP203/EP204/EP205	6.017E+5	3.204E-2	5.324E-8	9.561E+5	3.472E-4	3.631E-10
PD-L1-scFv/IL-15	EP207/EP208	4.732E+5	2.983E-2	6.304E-8	9.234E+5	4.699E-4	5.088E-10
PD-L1	EP205/EP206	NA	NA	NA	9.561E+5	3.472E-4	3.631E-10

NFAT 리포터 검정에서 항-PD-L1/IL-15 항체

Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정 (Promega, J1250)에서 면역 세포의 활성화는 scFv 특성화에서 기재된 것과 동일하였다. 이기능적 항체에 대한 EC50은 표 22에 나타나 있다. 도 11은 NFAT 리포터 검정 결과를 도시한다.

표 22. NFAT 리포터 검정에서 이기능적 항-PD-L1/IL-15 항체의 EC50.

이기능적	작제물 쌍	NFAT 리포터 EC50 (nM)
PD-L1-Fab/IL-15	EP203/EP204/EP205	NA
PD-L1-scFv/IL-15	EP207/EP208	2.297

항-PD-L1/IL-15 항체의 P-STAT5 활성화

인간 PBMC를 2 개의 별개의 공여자의 백혈구 감소 시스템 (LRS) 콘으로부터 분리하였고, 90 μ L의 배지에서 96-웰 플레이트에 250,000 개의 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 37°C에서 1 시간 동안 휴지시켰다. 세포를 37°C에서 20 분 동안 10 μ L 중 10X 농도의 항-PD-L1/IL-15 항체로 자극하였다. 자극된 PBMC를 즉시 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, CD56, CD4, CD8, FOXP3) 및 p-STAT5에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+CD56-CD4-CD8+로 정의하였다. NK 세포를 CD3-CD56+로 정의하였다. T 조절 세포를 CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+로 정의하였다. p-STAT5+인 세포의 %를 결정하고, 각각의 항체 또는 IL-15 (Peprotech) 적정에 대해 그래프로 작성하였다. p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값을 Prism 소프트웨어를 사용하여 결정하였다. p-STAT5의 EC50을 표 23에 나타내었다. 도 12는 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포에서의 p-STAT5 활성화 결과를 도시한다.

표 23. 항-PD-L1/IL-15 항체의 P-STAT5 활성화.

	작제물 쌍	EC50 (nM)		
		CD8+ T 세포	NK 세포	T 조절 세포
PD-L1-Fab/IL-15	EP203/EP204/EP205	0.1571	0.01433	0.167
PD-L1-scFv/IL-15	EP207/EP208	0.2482	0.04478	0.2627
IL-15	-	0.002991	0.004617	0.00179

실시예 6. 1가 IL-2-FC 특성화

IL-2R α 및 IL-2R β 수용체 ELISA에 대한 결합

1가 IL-2 Fc-융합 단백질의 경우, 재조합 His-태깅된 인간 IL-2R α 및 IL-2R β 를 25 μ L의 1X PBS에서 384-웰 플레이트의 웰에 첨가하고, 4°C에서 밤새 항온처리하여, 플레이트를 코팅하였다. 플레이트를 0.05% Tween20/1X PBS로 3 회 세척하였다. 플레이트를 100 μ L의 SuperBlock으로 RT에서 1 시간 동안 차단한 다음, 0.05% Tween20/1X PBS로 3 회 세척하였다. IL-2 돌연변이체를 0.05% Tween 20/1X PBS에서 1000 nM로부터 0 nM까지 희석하고, 실온에서 2 시간 동안 플레이트에 첨가하였다. 그런 다음, 플레이트를 0.05% Tween20/1X PBS로 6 회 세척하였다. 항-HisTag-HRP를 0.05% Tween20/1X PBS에 1:5000으로 희석하고, RT에서 1 시간 동안 플레이트에 첨가하였다. 그런 다음, 플레이트를 0.05% Tween 20/1X PBS로 6 회 세척하고, TMB를 첨가하여, 청색을

발색시켰다. 반응을 2 N 수소 설��파이드로 중지시키고, 450 nm에서의 흡광도를 BioTek 플레이트 판독기에서 판독하였다. 흡광도 대 IL-2 농도를 인간 IL-2R α 및 IL-2R β 에 대해 그래프로 작성하였다. ELISA 결합의 EC50 값의 요약이 표 24에 나타나 있다. 도 13a 및 도 13b는 각각 IL-2R α 및 IL-2R β 수용체에 대한 1가 IL-2 Fc 단백질의 결합을 도시한다.

표 24. IL-2R α 및 IL-2R β 수용체에 대한 1가 IL-2 Fc 결합에 대한 ELISA의 EC50 값.

형식	작제물 쌍	IL-2R α 결합 ELISA (nM)	IL-2R β 결합 ELISA (nM)
IL-2-Fc	EP290/EP280	1.082	1.901
	EP291/EP280	3.552	0.2479
	EP297/EP280	ND	0.2283
	EP412/EP280	ND	3.656
	EP413/EP280	ND	0.2818
	EP414/EP280	ND	0.3323
	EP415/EP280	ND	0.7775
	EP416/EP280	ND	0.5447
	EP417/EP280	ND	0.5076
	EP418/EP280	ND	0.6797
	EP419/EP280	ND	0.4357

IL-2R α 및 IL-2R β 수용체 SPR에 대한 결합

1가 IL-2R β Fc 융합 단백질의 결합 동역학은 Biacore T200을 이용한 SPR 기술에 의해 분석하였다. 간략하게, 항-hFc 항체를 유동 세포 1 및 2에 고정화시켰다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 IL-2 Fc 융합 단백질을, 항-hFc 고정화된 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. IL-2R α -HIS 태깅된 또는 IL-2R β -HIS 태깅된 100 nM을 2배 연속 희석하고, 참조 유동 세포 1 및 IL-2 Fc 융합 단백질 둘 모두에 주사하고, 유동 세포 2에서 30 μ L/분의 유속에서 150 초 동안 포획하였다. 마지막 주사 후 300 초 세척을 적용하였다. 검정을 96 웰 형식에서 8 개의 연속 희석된 농축 지점으로 설정하였다. 동역학 데이터를 Biacore T200 평가 소프트웨어 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 표적 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 뺄셈으로부터 도출하였다. IL-2 수용체에 대한 1가 IL-2-Fc 융합 단백질의 결합 동역학의 요약은 표 25에 나타나 있다.

표 25. IL-2R α 및 IL-2R β 수용체 SPR에 대한 결합.

형식	작제물 쌍	IL-2R α 결합			IL-2R β 결합		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
IL-2 Fc	EP290/EP280	NA	NA	1.115E-8*	1.960E+5	1.960E+5	2.004E-6
	EP291/EP280	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP297/EP280	ND	ND	ND	3.280E+6	0.008194	2.498E-9
	EP412/EP280	ND	ND	ND	NA	NA	NA
	EP413/EP280	ND	ND	ND	7.815E+6	0.01109	1.419E-9
	EP414/EP280	ND	ND	ND	4.555E+6	0.001084	2.379E-10
	EP415/EP280	ND	ND	ND	1.324E+7	0.02207	1.666E-9
	EP416/EP280	ND	ND	ND	4.215E+6	0.03518	8.346E-9
	EP417/EP280	ND	ND	ND	7.609E+6	0.04376	5.752E-9
	EP418/EP280	ND	ND	ND	NA	NA	2.250E-8*
	EP419/EP280	ND	ND	ND	NA	NA	6.280E-9*

*정상 상태 친화도. ND: 비-검출가능한 결합

P-STAT5 프로파일

인간 PBMC를 2 개의 별개의 공여자로부터 LRS 콘으로부터 분리하고, 90 μ L의 배지에서 96-웰 플레이트에 250,000 개의 세포/웰로 플레이트하였다. 세포를 37°C에서 1 시간 동안 휴지시켰다. 세포를 인간 IL-2-Fc WT로 자극하고, 37°C에서 20 분 동안 10 μ L에서 10X 농도로 IL-2-Fc 돌연변이를 조작하였다. 자극된 PBMC를 즉시 고

정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, CD56, CD4, CD8, FOXP3) 및 p-STAT5에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+CD56-CD4-CD8+로 정의하였다. NK 세포를 CD3-CD56+로 정의하였다. T 조절 세포를 CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+로 정의하였다. p-STAT5+인 세포의 %를 결정하고, 각각의 IL-2 적정에 대해 그래프로 작성하였다. p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값을 Prism 소프트웨어를 사용하여 결정하고, 표 26에 나타내었다. 도 14a-d는 공여자-126으로부터의 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다. 도 14e-h는 공여자-359로부터의 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포 및 T 조절 세포에 대한 p-STAT5 프로파일링 곡선을 도시한다.

표 26. p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값.

형식	작제물 쌍	공여자-126 EC50 (nM)			공여자-359 EC50 (nM)		
		CD8+ T 세포	NK Cell	T 조절 세포	CD8+ T 세포	NK Cell	T 조절 세포
IL-2-Fc	EP290/EP280	3.095	306.5	0.02665	약함	7.618	0.01938
	EP291/EP280	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP297/EP280	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP412/EP280	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP413/EP280	0.07649	0.4673	0.2848	0.8045	0.337	0.3602
	EP414/EP280	0.02651	0.3441	0.1588	0.6643	0.1479	0.4323
	EP415/EP280	0.06504	0.4719	0.2630	0.8691	0.2325	0.4172
	EP416/EP280	0.1842	1.116	0.6288	3.064	1.145	1.923
	EP417/EP280	0.1595	1.036	0.6506	2.397	0.6835	1.577
	EP418/EP280	0.3956	2.848	1.564	5.951	1.936	3.609
	EP419/EP280	0.1088	0.6566	0.3199	1.34	0.4319	0.5882

실시예 7. IL-2/항-PD-L1-SCFV 이기능적 특성화

ELISA에서 IL-2/항-PD-L1 scFv 항체의 IL-2 수용체 및 PD-L1 결합 활성

384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1X PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도로 항-인간 Fc로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 후, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 25 μ L의 부피에서 50 nM에서 시작하여 IL-2/항-PD-L1 scFv의 적정을 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. 세척 후, 25 μ L의 30 nM 비오티닐화된 PD-L1을 각각의 웰에 첨가하였다. IL-2/항-PD-L1 scFv에 의한 PD-L1 결합을 1X PBST에서 1:10000으로 희석된 25 μ L의 스트렙타비딘 HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트를 플레이트 세척기에서 1X PBST로 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 25 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 25 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 중지시켰다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독하고, 결합 상관관계를 Prism 8.1 소프트웨어로 플롯팅하였다. IL-2R α 및 IL-2R β 수용체에 대한 항체의 ELISA 결합 검정을 실시예 6에 기재된 바와 같이 수행하였다. ELISA 결합 EC50 값을 표 27에 나타내었다. 도 15a, 도 15b 및 도 15c는 각각 IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 대한 항체의 ELISA 결합 곡선을 도시한다.

[0331] 표 27. ELISA에서 IL-2/항-PD-L1 scFv 항체의 IL-2 수용체 및 PD-L1 결합 활성.

형식	작제물 쌍	IL-2R α 결합 ELISA (nM)	IL-2R β 결합 ELISA (nM)	PD-L1 결합 ELISA (nM)
IL-2/항-PD-L1 FcFv	EP290/EP326	0.275	4.013	0.1405
	EP291/EP326	1.013	0.552	0.246
	EP297/EP326	ND	0.4302	0.1076
	EP412/EP326	ND	2.182	0.1557
	EP413/EP326	ND	0.5449	0.3455
	EP414/EP326	ND	0.5103	0.2122
	EP415/EP326	ND	1.333	0.2268
	EP416/EP326	ND	1.235	0.2981
	EP417/EP326	ND	0.5153	0.1878
	EP418/EP326	ND	NA	0.2868
	EP419/EP326	ND	0.6128	0.2058
항-PD-L1	EP205/EP206	-	-	0.1635
아테졸리주맙	-	-	-	0.1571

[0332]

[0333] HTRF 검정에서 PD-L1 및 PD-1 상호작용에 대한 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 경쟁 및 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정에서 면역 세포의 활성화를 scFv 특성화에 기재된 바와 같이 수행하였다. HTRF IC50 및 NFAT 리포터 검정 EC50 값을 표 28에 나타내었다. 도 16은 NFAT 리포터 검정 결과를 도시한다.

[0334] 표 28. HTRF 검정에서 PD-L1 및 PD-1 상호작용에 대한 IL-2/항-PD-L1 ScFv 및 항-PD-L1 IgG 항체의 결합 경쟁 및 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정에서 면역 세포의 활성화.

이기능적	HTRF IC50 (nM)	NFAT 리포터 EC50 (nM)
EP290/EP326	176.3	2.301
EP412/EP326	134.1	2.606
EP415/EP326	2281	3.46
EP418/EP326	346.4	9.066
EP205/EP206	128	0.5487

[0335]

[0336] SPR에서 IL-2R α , IL-2R β 수용체 및 PD-L1에 대한 결합

[0337] IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 이기능적인 항-PD-L1/IL-2의 동역학 분석을 Biacore T200을 이용한 SPR 기술에 의해 평가하였다. 검정을 Biacore T200 제어 소프트웨어 버전 2.0으로 실행하였다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 항-hPD-L1/IL-2을 단백질 A 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. 2-배 연속 희석된 IL-2R α -HIS 또는 IL-2R β -HIS 또는 hPD-L1-HIS 태깅된 단백질을 참조 유동 세포 1 및 항-PD-L1/IL-2 이기능적 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ L/분의 유속으로 150 초 동안 주사한 후, 300 초 동안 세척하였다. 그런 다음, 유동 세포를 30 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 글리신 pH2로 재생시켰다. 100 nM-0 nM (IL-2R α -HIS 및 IL-2R β -HIS) 또는 300 nM-0 nM (PD-L1-HIS)로부터의 8 개의 농도 지점을 96 웰 플레이트에서 항-PD-L1 IgG에 대하여 분석하였다. IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1/IL-2 이기능적 결합의 동역학을 Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 항체 포획된 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 백분율로부터 도출하였다. 각각의 IL-2 및 PD-L1에 대한 항체의 결합 동역학을 표 29에 나타내었다.

[0338] 표 29. IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 이기능적인 IL-2/항-PD-L1 ScFv의 동역학 분석.

형식	작제물 상	IL-2R α 결합			IL-2R β 결합			PD-L1 결합		
		ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
IL-2/ PD-L1 scFv	EP290/ EP326	NA	NA	NA	8.855E+5	0.05082	5.740E-8	5.003E+5	2.320E-4	4.638E-10
	EP291/ EP326	NA	NA	약함	4.103E+5	7.663E-4	1.867E-9	5.736E+5	1.949E-4	3.397E-10
	EP297/ EP326	NA	NA	약함	2.570E+6	0.008542	3.323E-9	7.822E+5	1.488E-4	1.902E-10
	EP412/ EP326	ND	ND	ND	2.988E+4	0.3573	1.196E-5	4.030E+5	2.389E-4	5.929E-10
	EP413/ EP326	ND	ND	ND	1.648E+6	0.01072	6.502E-9	4.868E+5	2.468E-4	5.069E-10
	EP414/ EP326	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP415/ EP326	ND	ND	ND	3.416E+6	0.02107	6.168E-9	4.865E+5	2.261E-4	4.648E-10
	EP416/ EP326	ND	ND	ND	1.281E+6	0.03393	2.648E-8	5.194E+5	2.024E-4	3.897E-10
	EP417/ EP326	ND	ND	ND	2.263E+6	0.04966	2.194E-8	4.974E+5	2.136E-4	4.295E-10
	EP418/ EP326	ND	ND	ND	NA	NA	7.579E-8*	5.093E+5	2.786E-4	5.470E-10
	EP419/ EP326	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

*정상 상태 친화도

ND: 비-검출가능한 결합

[0339]

[0340]

인간 PBMC에서 IL-2/항-PD-L1 scFv p-STAT5 활성화

[0341]

인간 PBMC를 2 개의 별개의 공여자의 LRS 콘으로부터 단리하고, 90 μ L의 배지에서 96-웰 플레이트에 250,000 개의 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 37°C에서 1 시간 동안 휴지시켰다. 세포를 10 μ L 중 10X 농도의 인간 IL-2/항-PD-L1 scFv WT 및 조작된 IL-2/항-PD-L1 scFv 돌연변이체로 37°C에서 20 분 동안 자극하였다. 자극된 PBMC를 즉시 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, CD56, CD4, CD8, FOXP3) 및 p-STAT5에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+CD56-CD4-CD8+로 정의하였다. NK 세포를 CD3-CD56+로 정의하였다. T 조절 세포를 CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+로 정의하였다. p-STAT5+인 세포의 백분율을 결정하고, 각각의 IL-2 적정에 대해 그래프로 작성하였다. p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값을 Prism 소프트웨어를 사용하여 결정하고, 표 30에 나타내었다. 도 17a-d는 공여자-359로부터의 PBMC 세포의 p-STAT5 결과를 도시한다. 도 17e-h는 공여체-126으로부터의 PBMC 세포의 p-STAT5 결과를 도시한다.

[0342]

표 30. 공여자 #359 및 #126으로부터의 인간 PBMC에서 IL-2/항-PD-L1 scFv p-STAT5 활성화.

형식	작제물 상	공여자-359 EC50 (nM)			공여자-126 EC50 (nM)		
		CD8+ T 세포	NK 세포	T 조절 세포	CD8+ T 세포	NK 세포	T 조절 세포
IL-2/ 항-PD-L1 ScFv	EP290/EP326	0.3218	1.635	0.000397	0.8547	1.215	0.007386
	EP413/EP326	0.1467	0.06049	0.172	0.4499	0.1682	0.4269
	EP414/EP326	0.1574	0.03597	0.1531	0.3805	0.0979	0.3445
	EP415/EP326	0.2758	0.0645	0.268	0.5887	0.1675	0.6262
	EP416/EP326	0.1709	0.08715	0.205	0.4946	0.3076	0.6471
	EP417/EP326	0.1476	0.05406	0.1674	0.3524	0.1553	0.4123
	EP418/EP326	0.17	0.07943	0.09565	0.4444	0.2756	0.1619
	EP419/EP326	0.1291	0.04648	0.1381	0.2709	0.07921	0.3268

[0343]

[0344]

실시예 8. IL-2/항-PD-L1-FAB 이기능적 및 항-PD-L1/IL-2 융합 특성화

[0345]

IL-2/항-PD-L1 Fab PD-L1 결합 ELISA, HTRF 경쟁 및 Jurkat 리포터 검정

[0346] 384 웰 플레이트를 웰당 총 부피 25 μ L의 1X PBS 중 2 μ g/mL의 최종 농도의 항-인간 Fc로 고정화하였다. 플레이트를 4°C에서 밤새 항온처리한 후, 웰당 80 μ L의 수퍼블록으로 1 시간 동안 차단하였다. 25 μ L의 부피에서 50 nM에서 시작하여 IL-2/항-PD-L1 FAB의 적정을 웰에 첨가하고, 진탕하면서 1 시간 동안 항온처리하였다. 세척 후, 25 μ L의 30 nM 비오티닐화된 PD-L1을 각각의 웰에 첨가하였다. IL-2/항-PD-L1 FAB에 의한 PD-L1 결합을 1X PBST에서 1:10000으로 희석된 25 μ L의 스트렙타비딘 HRP를 첨가함으로써 검출하였다. 각각의 단계 사이에, 플레이트를 플레이트 세척기에서 1X PBST로 3 회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 25 μ L의 TMB 기질로 5 분 동안 전개시키고, 25 μ L의 2 N 황산을 첨가함으로써 중지시켰다. IL-2R α 및 IL-2R β 수용체에 대한 항체의 ELISA 결합 검정은 실시예 6에 기재된 바와 동일하였다. 플레이트를 OD450 nm Biotek 플레이트 판독기에서 판독하고, 결합 상관관계를 Prism 8.1 소프트웨어로 플롯팅하였다. ELISA 결합 EC50 값을 표 31에 나타내었다. 도 18a, 도 18b 및 도 18c는 각각 IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 대한 IL-2 Fc/항-PD-L1 Fab 변이체의 ELISA 결합 곡선을 도시한다.

[0347] 표 31. IL-2 Fc/항-PD-L1 Fab의 ELISA 결합 검정으로부터의 EC50 값.

형식	작제물 쌍	IL-2R α 결합 ELISA (nM)	IL-2R β 결합 ELISA (nM)	PD-L1 결합 ELISA (nM)
IL-2/항-PD-L1 Fab	EP290/ EP325/EP205	0.275	2.213	0.08776
	EP291/ EP325/EP205	1.013	0.3669	0.1041
	EP297/ EP325/EP205	ND	0.3833	0.09717
	EP412/ EP325/EP205	ND	3.737	0.1529
	EP413/ EP325/EP205	ND	0.5279	0.1294
	EP414/ EP325/EP205	ND	0.5013	0.1024
	EP415/ EP325/EP205	ND	0.5625	0.106
	EP416/ EP325/EP205	ND	0.9404	0.1206
	EP417/ EP325/EP205	ND	0.782	0.1618
	EP418/ EP325/EP205	ND	0.9196	0.1796
	EP419/ EP325/EP205	ND	1.086	0.2311
항-PD-L1	EP205/EP206	-	-	0.2599
아테졸리주맙	-	-	-	0.1999
인간 IgG	-	-	-	ND

[0348]

[0349] HTRF 검정에서 PD-L1 및 PD-1 상호작용에 대한 이기능적 단백질의 결합 경쟁 및 Jurkat 세포 NFAT 리포터 검정에서 면역 세포의 활성화는 scFv 특성화에 기재된 바와 동일하였다. HTRF IC50 및 NFAT 리포터 검정 EC50 값을 표 32에 나타내었다. 도 19는 NFAT 리포터 검정 곡선을 도시한다.

[0350] 표 32. HTRF IC50 및 NFAT 리포터 검정 EC50 값.

이기능적	HTRF IC50 (nM)	NFAT 리포터 EC50 (nM)
EP290/EP325/EP205	136.6	1.504
EP412/EP325/EP205	188.5	2.522
EP415/EP325/EP205	98.35	2.478
EP418/EP325/EP205	89.41	1.871
EP362/EP363/EP205	149.8	0.427
EP362/EP364/EP205	128	0.356
EP362/EP365/EP205	99.21	0.362
EP205/EP206	128	0.5487

[0351]

[0352] IL-2R α , IL-2R β 수용체 및 PD-L1 SPR에 대한 결합

[0353] IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 이기능적인 항-PD-L1/IL-2의 동역학 분석을 Biacore T200을 이용한 SPR 기술에 의해 평가하였다. 검정을 Biacore T200 제어 소프트웨어 버전 2.0으로 실행하였다. 각각의 주기에 대해, 1 μ g/mL의 항-hPD-L1/IL-2를 단백질 A 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ l/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. 2-배 연속 희석된 IL-2R α -HIS 또는 IL-2R β -HIS 또는 hPD-L1-HIS 태깅된 단백질을 참조

유동 세포 1 및 항-PD-L1/IL-2 이기능적 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ L/분의 유속으로 150 초 동안 주사하고, 300 초 동안 세척하였다. 그런 다음, 유동 세포를 30 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 글리신 pH2로 재생시켰다. 100 nM-0 nM (IL-2R α -HIS 및 IL-2R β -HIS) 또는 300 nM-0 nM (PD-L1-HIS)로부터의 8 개의 농도 지점을 96 웰 플레이트에서 항-PD-L1 IgG에 대하여 검정하였다. IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1 단백질에 대한 항-PD-L1/IL-2 이기능적 결합의 동역학을 Biacore T200 평가 소프트웨어 버전 3.0으로 분석하였다. 특이적 결합 반응 유닛을 항체 포획된 유동 세포 2로부터 참조 유동 세포 1에 대한 결합의 백셈으로부터 도출하였다.

[0354] 이기능적 항체가 IL-2 수용체 및 PD-L1에 동시에 결합할 수 있는지 여부를 평가하기 위해, 항-PDL1/IL2 이기능적을 단백질 A 센서 칩 상에서 1 X HBSP 완충액 중 유동 세포 2에서 10 μ L/분의 유속으로 60 초 동안 포획하였다. hPD-L1-HIS 태깅된 단백질을 참조 유동 세포 1 및 항-PD-L1/IL-2 이기능적 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 60 초 동안 주사한 후, IL-2R α -HIS 또는 IL-2R β -HIS 단백질을 참조 유동 세포 1 및 hPD-L1 결합된 항-PD-L1/IL-2 이기능적 포획된 유동 세포 2 둘 모두에 30 μ L/분의 유속으로 90 초 동안 주사하고, 120 초 동안 세척하였다. 도 20은 단일 농도에서 항체에 대한 PD-L1 및 IL-2R α 및 IL-2R β 의 동시 결합을 도시한다. IL-2 수용체 및 PD-L1에 대한 항-PDL1/IL2 이기능적 결합 동역학을 위에 기재된 바와 같이 측정하고, 데이터를 표 33에 나타내었다.

[0355] 표 33. SPR에서 IL-2 Fc/항-PD-L1 Fab의 IL-2R α , IL-2R β 및 PD-L1에 대한 결합 동역학.

형식	작제물 상	IL-2R α 결합			IL-2R β 결합			PD-L1 결합		
		Kon	Koff	KD	Kon	Koff	KD	Kon	Koff	KD
IL-2/ 항-PD-L1 Fab	EP290/ EP325/ EP205			*3.865 E-8	1.122E+ 6	0.1288	1.149E- 7	3.951E+ 5	3.655E-4	9.252E- 10
	EP291/ EP325/ EP205			약함	6.198E+ 5	7.568E-4	1.221E- 9	7.417E+ 5	2.692E-4	3.629E- 10
	EP297/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	2.882E+ 6	0.00836 5	2.902E- 9	7.702E+ 5	2.433E-4	3.160E- 10
	EP412/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	1.063E+ 6	0.1017	9.566E- 8	5.033E+ 5	4.092E-4	8.130E- 10
	EP413/ EP325/ EP205				1.419E+ 6	0.00772 7	5.444E- 9	4.278E+ 5	4.134E-4	9.662E- 10
	EP414/ EP325/ EP205	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	EP415/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	4.667E+ 6	0.02365	5.068E- 9	5.485E+ 5	5.421E-4	9.885E- 10
	EP416/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	1.316E+ 6	0.03229	2.453E- 8	4.607E+ 5	3.085E-4	6.696E- 10
	EP417/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	NA	NA	*2.544E- 8	4.822E+ 5	2.866E-4	5.944E- 10
	EP418/ EP325/ EP205	ND	ND	ND	NA	NA	*7.225E- 8	4.788E+ 5	3.663E-4	7.649E- 10
	EP419/ EP325/ EP205	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

*정상 상태 친화도. ND: 비-검출가능한 결합

[0356]

[0357] 인간 PBMC에서 IL-2/항-PD-L1 Fab p-STAT5 활성화

[0358]

인간 PBMC를 2 개의 별개의 공여자의 LRS 콘으로부터 단리하고, 90 μ L의 배지에서 96-웰 플레이트에 250,000 개의 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 37 $^{\circ}$ C에서 1 시간 동안 휴지시켰다. 세포를 10 μ L 중 10X 농도의 인간 IL-2/항-PD-L1 Fab WT 및 조작된 IL-2/항-PD-L1 Fab 돌연변이체로 37 $^{\circ}$ C에서 20 분 동안 자극하였다. 자극된 PBMC를 즉시 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, CD56, CD4, CD8, FOXP3) 및 p-STAT5에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+CD56-CD4-CD8+로서 정의하였다. NK 세포를

CD3-CD56+로서 정의하였다. T 조절 세포를 CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+로서 정의하였다. p-STAT5+인 세포의 백분율을 결정하고, 각각의 IL-2 적정에 대해 그래프로 작성하였다. p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값을 Prism 소프트웨어를 사용하여 결정하고, 표 34에 나타내었다. 도 21a-d는 공여자-857에서 p-STAT5 활성화 곡선을 도시한다. 도 21e-h는 공여자-359로부터 p-STAT5 활성화 곡선을 도시한다.

표 34. 인간 PBMC에서 IL-2/항-PD-L1 FAB p-STAT5 활성화.

형식	작제물 상	공여자-857 EC50 (nM)			공여자-359 EC50 (nM)		
		CD8+ T 세포	NK 세포	T 조절 세포	CD8+ T 세포	NK 세포	T 조절 세포
IL-2/ 항-PD-L1 Fab	EP290/ EP325/ EP205	0.4814	2.787	0.001738	0.886	1.196	0.008621
	EP412/ EP325/ EP205	3.176	3.486	0.627	0.6505	1.09	-0.9344
	EP415/ EP325/ EP205	0.1031	0.05031	0.06279	0.09958	0.02746	0.1182
	EP416/ EP325/ EP205	0.1314	0.198	0.1544	0.1691	0.1197	0.4638
	EP417/ EP325/ EP205	0.1424	0.1177	0.1436	0.1271	0.07436	0.1518
	EP418/ EP325/ EP205	0.1667	0.3104	0.3188	0.2146	0.1652	0.372

마우스 비장세포에서 IL-2/항-PD-L1 Fab p-STAT5 활성화

구입한 마우스 비장세포를 90 μ L의 배지에서 96-웰 플레이트에서 250,000 개의 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 37°C에서 1 시간 동안 휴지시켰다. 세포를 10 μ L 중 10 X 농도의 무린 IL-2, 인간 IL-2/항-PD-L1 Fab WT 및 조작된 IL-2/항-PD-L1 Fab 돌연변이체로 37°C에서 20 분 동안 자극하였다. 자극된 PBMC를 즉시 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, Nkp46, CD4, CD8, FOXP3) 및 p-STAT5에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+Nkp46-CD4-CD8+로서 정의하였다. NK 세포를 CD3-Nkp46+로서 정의하였다. T 조절 세포를 CD3+Nkp46-CD4+CD8-FOXP3+로서 정의하였다. p-STAT5+인 세포의 %를 결정하고, 각각의 IL-2 적정에 대해 그래프로 작성하였다. Prism 소프트웨어를 사용하여 p-STAT5 활성화에 대한 EC50 값을 결정하고, 표 35에 나타내었다. 마우스 IL2 (PeproTech, mIL-2)를 참조로서 사용하였다. 도 22a-d는 마우스 비장세포에서 p-STAT5 활성화 곡선을 도시한다.

표 35. 마우스 비장세포에서 IL-2/항-PD-L1 FAB p-STAT5 활성화.

형식	작제물 상	EC50 (nM)		
		mCD8+ T 세포	mNK 세포	mT 조절 세포
IL-2/항- PD-L1 Fab	EP290/ EP325/EP205	128.9	약함	0.05156
	EP412/ EP325/EP205	약함	약함	0.001403
	EP413/ EP325/EP205	27.04	8.486	약함
	EP414/ EP325/EP205	0.949	0.1087	3.532
	EP415/ EP325/EP205	8.703	3.173	134.7
	EP416/ EP325/EP205	9.712	3.89	~16.14
	EP417/ EP325/EP205	28.65	12.92	약함
	EP418/ EP325/EP205	약함	~13.49	약함
	EP419/ EP325/EP205	7.696	1.226	4.893
mIL-2	-	0.691	~0.1144	0.000685

실시예 9. 항-PD-L1 MAB 종양 성장 억제 (MB-231 종양)

단일 공여자로부터의 CD34+ 제대혈로 인간화된 7-주령 암컷 NCG 마우스에 50% matrigel 중 500,000 개의 MDA-MB-231 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 100 mm³의 평균 부피에 도달하면,

마우스를 200 μ g 아테졸리주맵 또는 조작된 항-PD-L1 mAb EP204/EP206 Q3D로 20 일 동안 치료하였다. 종양 부피 및 마우스 중량을 주당 3 회 측정하였다. 비히클 치료된 그룹과 비교하여 시간 경과에 따른 종양 부피 및 체중을 플롯팅하였다. 도 23은 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

[0367] 사이토카인 프로파일링을 위해, 마우스를 말단 출혈로 희생시키고, 혈액을 즉시 원심분리하여, 혈장을 분리하였다. 혈장 중 인간 IFN γ 및 TNF α 의 농도를 DuoSet 인간 TNF α 및 IFN γ ELISA 키트를 사용하여 결정하였다. 도 24a 및 도 24b는 각각 혈장 중 인간 TNF α 및 IFN γ 수준을 도시한다.

[0368] **실시예 10. MC38 종양 마우스에서 IL-2/항-PD-L1-FAB 후보 혈액 및 비장세포 면역 프로파일링**

[0369] 7-주령의 암컷 C57BL/6 마우스에 50% matrigel 중 100,000 개의 MC38 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 100 mm³의 평균 부피에 도달하면, 마우스를 2 μ g의 인간 IL-2/항-PD-L1 Fab WT (EP290/EP325/EP205) 또는 조작된 IL-2/항-PD-L1 Fab 돌연변이체 (EP412/EP325/EP205; EP415/EP325/EP205; EP416/EP325/EP205; EP417/EP325/EP205; 및 EP418/EP325/EP205) Q4D로 11 일 동안 치료하였다. 11 일차에, 마우스를 희생시키고, 꼬리 정맥 출혈을 통해 말초 혈액을 분리하였다. 적혈구를 용해시키고, Attune 유세포 분석기를 사용하여 면역 세포를 분석하였다. CD4+ T 세포를 CD45+CD3+NKp46-CD4+CD8-로 정의하였다. CD8+ T 세포를 CD45+CD3+NKp46-CD4-CD8+로 정의하였다. NK 세포를 CD45+CD3-NKp46+로 정의하였다. T 조절 세포 NK 세포를 CD45+CD3+NKp46-CD4+CD8-FOXP3+로 정의하였다. CD45+ 집단 내의 각각의 서브타입의 백분율을 각각의 치료 그룹에 대해 플롯팅하였다. 도 25a-d는 혈액에서 면역 세포 프로파일링 결과를 도시한다. 도 26a-d는 비장세포에서 면역 세포 프로파일링 결과를 도시한다.

[0370] **실시예 11. IL-2/항-PD-L1-FAB 후보 종양 성장 억제 (HPD-1 트랜스제닉 마우스에서의 B16F10-HPD-L1 종양)**

[0371] 다음의 실시예는 생체내 무린 모델에서 IL-2/항-PD-L1-Fab에 의한 종양 성장 억제를 평가하기 위한 실험을 설명한다. 7-주령의 암컷 hPD-1 트랜스제닉 마우스에 50% matrigel 중 500,000 개의 B16F10-hPD-L1 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 70-90 mm³의 평균 부피에 도달하면, 마우스를 200 μ g 아테졸리주맵 Q3D 또는 10 μ g 조작된 IL-2/항-PD-L1-Fab 이기능적 단백질 (EP415/EP325/EP205; EP418/EP325/EP205) Q5D로 20 일 동안 치료하였다. 종양 부피 및 마우스 중량을 주당 3 회 측정하였다. 비히클 처리된 그룹과 비교하여 시간 경과에 따른 종양 부피 및 체중을 플롯팅하였다. 도 27은 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

[0372] **실시예 12. IL-2/항-PD-L1-FAB 후보 종양 성장 억제(MB-231 종양)**

[0373] 다음의 실시예는 생체내 무린 모델에서 IL-2/항-PD-L1-Fab에 의한 종양 성장 억제를 평가하기 위한 실험을 설명한다. 단일 공여자로부터의 CD34+ 제대혈로 인간화된 7-주령의 암컷 NCG 마우스에 50% matrigel 중 500,000 개의 MDA-MB-231 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 80-100 mm³의 평균 부피에 도달하면, 마우스를 200 μ g 조작된 항-PD-L1 mAb EP205/EP206 Q3D 또는 5 μ g IL-2/항-PD-L1-Fab 이기능적 단백질 (EP290/EP325/EP205; EP412/EP325/EP205; EP415/EP325/EP205; EP418/EP325/EP205) Q5D로 20 일 동안 치료하였다. 종양 부피 및 마우스 중량을 주당 3 회 측정하였다. 비히클 치료된 그룹과 비교하여 시간 경과에 따른 종양 부피 및 체중을 플롯팅하였다. 도 28은 종양 성장 억제 곡선을 도시한다.

[0374] **실시예 13. IL2/항-PD-L1-FAB 항체에 의한 인간 PBMC의 치료는 생체의 CD8+ T 세포에서 증가된 PD-1 발현을 야기함**

[0375] 인간 PBMC를 단일 공여자로부터의 LRS 콘으로부터 분리하고, 180 μ L의 완전 배지에서 96-웰 플레이트에 100,000 개의 세포/웰로 플레이팅하였다. 세포를 5% CO2 항온처리기에서 1 시간 동안 37°C에서 휴지시켰다. 100 nM 내지 0.0001 nM의 IL2의 웰 중 최종 농도를 제공하는 배지에 희석된 EP415/EP325/EP205 또는 EP290/EP325/EP205의 조합된 구성요소를 포함하는 20 μ L의 IL-2 Fc/항-PD-L1 Fab를 첨가함으로써 세포를 자극하였다. 세포를 항온처리기에 5 일 동안 방해받지 않고 그대로 두었다. 5 일 후, PBMC를 PBS로 세척하고, 생존력 염료에서 항온처리하였다. 후속 세척 후, 세포를 고정하고, 투과화한 다음, 세포 계통 마커 (CD3, CD56, CD4, CD8, FOXP3) 및 PD-1에 대해 염색하고, Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. CD8+ T 세포를 CD3+CD56-CD4-CD8+로 정의하고, T조절을 CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+로 정의하였다. PD-1을 발현하는 CD8+ T 세포 및 T조절의 백분율을 계산하고, IL2 농도에 대해 플롯팅하였다. 도 29a는 각각 EP415/EP325/EP205 및 EP290/EP325/EP205의 처리 후 용량 의존적 PD-1 양성 CD8+ T 세포를 도시한다. 도 29b는 각각 EP415/EP325/EP205 및 EP290/EP325/EP205의 처리 후 PD-1 양성 T조절 세포를 도시한다.

[0376] **실시예 14. EP415/EP325/EP205는 강력한 IL2RB 수용체 작용제임**

[0377] HEK-Blue IL-2 세포를 InvivoGen으로부터 구입하고, 제조업체의 지침에 따라 배양하였다. 이들 세포에 의한 CD25, CD122 및 PD-L1의 표면 발현을 정량화하기 위해, HEK Blue IL2 세포를 200 μ L의 배지 중 웰당 100,000 개의 세포의 밀도로 96-웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 항온처리기에서 1 시간 이상 동안 회복시켰다. 그런 다음, 세포를 세척하고, CD25, CD122 또는 PD-L1에 대한 형광 항체로 염색하였다. 동시에, Quantum Simply Cellular 마이크로스피어 표준물질 (Bangs Laboratories, Inc.)을 또한 동일한 항체로 염색하였다. 다시 세척한 후, 세포 및 마이크로스피어를 Attune 유세포 분석기에서 시각화하였다. 적절한 형광 채널의 각각의 마이크로스피어에 대한 중앙값 형광 세기 (MFI)를 계산하여, MFI 대 항체 결합 함량 (ABC)의 표준 곡선을 생성할 수 있다. 각각의 항체에 대한 세포로부터의 MFI를 적절한 표준물질과 비교하고, 중앙값 수용체 수를 계산하고 플롯팅하였다.

[0378] HEK-Blue IL-2 세포를 96-웰 플레이트에 100 μ L의 배지 중 웰당 100,000 개의 세포 밀도로 시딩하였다. 세포를 항온처리기에서 1 시간 이상 동안 회복시켰다. 플레이트를 스핀 다운시키고, 배지를 제거하고, 세포를 1:100 희석의 항-CD25 항체를 함유하는 신선한 배지 또는 배지 단독에 재-현탁시켰다. 세포를 4°C에서 30 분 동안 진탕 항온처리하였다. 항온처리 후, 세포를 스핀 다운시키고, 배지를 버리고, 이들을 EP415/EP325/EP205 또는 EP290/EP325/EP205의 적정을 함유하는 신선한 배지에 재현탁시켰다. 그런 다음, 세포를 4°C에서 1 시간 동안 진탕 항온처리하였다. 그런 다음, 배지를 제거하고, Alex Fluor 647과 컨쥬게이션된 항-인간-Fc 항체를 함유하는 배지로 교체하였다. 세포를 4°C에서 30 분 동안 진탕 항온처리하였다. 세포를 세척하고, 결합된 EP415/EP325/EP205 또는 EP290/EP325/EP205의 존재를 Attune 유세포 분석기를 사용하여 측정하였다. 결합된 EP415/EP325/EP205 또는 EP290/EP325/EP205를 갖는 HEK Blue IL2 세포의 백분율을 IL2 농도에 대해 플롯팅하였다. 도 30a는 HEK-Blue IL-2 세포에서 CD25, CD122 및 PD-L1의 발현 수준을 도시한다. 도 30b는 항-CD25 항체의 간섭 유무에 따른 HEK-Blue IL-2 세포에 대한 EP415/EP325/EP205 및 EP290/EP325/EP205의 FACS 결합 활성을 도시한다. CD-25 항체는 HEK-Blue IL-2 세포에 대한 EP290/EP325/EP205의 결합을 감소시킨 반면, EP415/EP325/EP205 결합에는 영향을 미치지 않았다. 이 데이터는 항-CD25 항체가 EP415/325/205의 세포주와의 상호작용을 간섭하는 것으로 보이지 않기 때문에 EP415/325/205가 IL2R β 수용체 결합을 선호한다는 것을 시사한다. 대조적으로, EP290/EP325/EP205는 IL2-WT 서열의 존재로 인한 IL2R α β γ 에 대한 더 높은 수준의 결합 및 항-CD25 항체의 간섭으로 인한 결합의 감소를 입증한다.

[0379] **실시예 15. EP415/EP325/EP205는 생체내에서 종양 국소화됨**

[0380] C57BL/6N 및 B6N 알비노 마우스에 250,000 개의 MC38 세포 (왼쪽 아래 옆구리) 및 1,000,000 개의 MC38-hPD-L1 세포 (오른쪽 아래 옆구리) 둘 모두를 양측 피하로 접종하였다. 두 종양 모두의 부피가 최소 300 mm³에 도달하면, 마우스에 Alexa Fluor 750으로 형광 표지된 1 mg/kg의 EP415/EP325/EP205를 복강내 주사 (IP)를 통해 투약하였다. IVIS Lumina III LT (Perkin Elmer) 시스템을 사용하여 종양 부위에서 형광 표지된 EP415/EP325/EP205의 존재를 결정하였다. 이미징 동안 내부 마취 매니폴드에 부착된 노즈 콘을 통해 마우스를 3% 이소플루란으로 유지하고, 후부-조명(epi-illumination) 이미징 획득을 위해 이미징 챔버의 가열된 (37°C) 선반에 놓았다. 스캔 후, 마우스를 제거하고, 복구를 위해 각각의 케이지에 다시 넣었다. 투약 후 다음의 시점에 마우스를 이미징하였다: 15 분, 1 시간, 2 시간, 4 시간, 6 시간 및 24 시간. 각각의 종양에 대한 총 플럭스를 계산하고, 시간에 대해 플롯팅하였다. 도 31a는 EP415/EP325/EP205 주사 후 24 시간째에 종양 보유 마우스의 대표적인 이미징 결과를 도시한다. 도 31b는 각각 MC-38-hPD-L1 및 MC-38 종양 부위에 대한 EP415/EP325/EP205의 시간 의존적 강화를 도시한다. 이러한 결과는 EP415/EP325/EP205가 MC-38-hPD-L1 종양 부위에 우선적으로 국소화되지만 MC-38 종양 부위에는 국소화되지 않음을 나타낸다.

[0381] **실시예 16. MDA-MB-231 세포 반응률이 높은 종양(hot tumor) 모델에서 효과적인 EP415/EP325/EP205**

[0382] 2-3 명의 공여자로부터의 CD34+ 제대혈로 인간화된 28-29 주령의 암컷 NCG 마우스에 50% Matrigel 중 500,000 개의 MDA-MB-231 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 100 mm³의 평균 종양 부피에 도달하면, 마우스를 항-PD-L1 EP205/EP206 (200 μ g, Q3D), EP290/EP325/EP205 IL2/항-PD-L1 (5 μ g, Q5D) 또는 EP415/EP325/EP205 IL2/항-PD-L1 (5 μ g, Q5D)로 IP 치료하였다. 종양 부피를 주당 2-3 회 측정하고, 비히클 대조군과 비교하여 시간 경과에 따라 플롯팅하였다.

[0383] 투약 개시 후 24 일차에, 마우스를 희생시키고, 종양을 채취하였다. 종양을 단일 세포 현탁액으로 해리하고, 생 존력 염료와 함께 항온처리하였다. 세척 후, 종양 세포를 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (CD3, CD56,

CD4, CD8, FOXP3)에 대해 염색하였다. 총 살아있는 세포의 백분율로서의 CD4+ T 세포 (CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3-), CD8+ T 세포 (CD3+CD56-CD4-CD8+), NK 세포 (CD3-CD56+) 및 T조절 (CD3+CD56-CD4+CD8-FOXP3+)의 백분율을 EP415/EP325/EP205 및 EP290/EP325/EP205 치료된 그룹에 대해 계산하고, 비히클 치료된 마우스와 비교하였다. 도 32a는 인간화된 NCG 마우스에서 항-PD1/PD-L1 반응성 암 세포 MDA-MB-231에 대한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. EP415/EP325/EP205는 항-PD-L1 항체 및 EP290/EP325/EP205 둘 모두보다 우수한 종양 성장 억제 활성을 나타낸다. 따라서, 도 32b-e는 종양 부위에서 면역 세포의 수준을 도시한다. 종양 부위에서 CD8 T 및 NK 세포의 활성화는 관찰된 효과와 상관관계가 있다.

[0384] **실시예 17. EP415/EP325/EP205는 COL0205 세포 반응률이 낮은 종양(cold tumor) 모델에서 효과적인**

[0385] 2-3 명의 공여자로부터의 CD34+ 제대혈로 인간화된 28-29 주령의 암컷 NCG 마우스에 50% Matrigel 중 5,000,000 개의 COL0205 세포를 등 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 100 mm³의 평균 종양 부피에 도달하면, 마우스를 항-PD-L1 (200 ug, EP205/EP206, Q3D), EP415/EP325/EP205 (5 ug, Q5D) 또는 EP415/EP325/EP205 (20 ug 단일 용량)로 IP 치료하였다. 종양 부피를 주당 2-3 회 측정하고, 비히클 대조군과 비교하여 시간 경과에 따라 플롯팅하였다. 마우스 체중을 매일 측정하고, 시간에 대해 플롯팅하였다. 도 33a는 인간화된 마우스에서 암 세포 COL0205에 대한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. 도 33b는 마우스의 상응하는 체중 변화를 도시한다. 도 33a-d의 데이터는 EP415/EP325/EP205가 항-PD-L1 항체보다 종양 성장을 억압하는 데 더 효과적이라는 것을 지지한다.

[0386] **실시예 18. 항-PD1 저항성 NCI-H1975 세포 종양에서 효과적인 EP415/EP325/EP205**

[0387] 2-3 명의 공여자로부터의 CD34+ 제대혈로 인간화된 20-24 주령의 암컷 NOG 마우스에 Matrigel과 혼합된 100 µL 무-혈청 배지 (v/v 1:1) 중 8×10^6 개의 NCI-H1975 세포를 등 오른쪽 옆구리에 피하 주사하였다. 종양을 캘리퍼스로 측정하였다. 100 mm³의 평균 종양 부피에 도달하면, 마우스를 EP415/EP325/EP205 (10 ug, Q10D), EP415/EP325/EP205 (5 ug, Q6D) 또는 펄스볼리주맙 (200 ug, Q4D)으로 IP 치료하였다. 종양 부피를 주당 2 회 측정하고, 비히클 대조군과 비교하여 시간 경과에 따라 플롯팅하였다. 마우스 체중을 주당 3-5 회 측정하고, 시간에 대해 플롯팅하였다.

[0388] 투약 개시 후 20 일차에, 마우스를 희생시키고, 종양을 채취하였다. 종양을 단일 세포 현탁액으로 해리하고, 생존력 염료와 함께 항온처리하였다. 세척 후, 세포를 고정하고, 투과화하고, 세포 계통 마커 (mCD45, hCD45, hCD3, hCD56, hCD4, hCD8, hFOXP3)에 대해 염색하였다. 종양 mm3당 살아있는 hCD45 세포 (mCD45-hCD45+) 및 살아있는 hCD8+ T 세포 (mCD45-hCD45+hCD3+hCD56-hCD4-hCD8+)의 수를 치료 그룹 각각에 대해 계산하고, 비히클 대조군과 비교하였다. 종양 내에서 hCD8+ T 세포 및 NK 세포 (mCD45-hCD45+hCD3-hCD56+)와 hT조절 (mCD45-hCD45+hCD3+hCD56-hCD8-hCD4+hFOXP3+)의 비를 또한 치료 그룹 각각에 대해 계산하고, 비히클 대조군과 비교하여 플롯팅하였다. 도 34a는 인간화된 마우스에서 암 세포 H1975에 대한 EP415/EP325/EP205의 종양 성장 억제 곡선을 도시한다. 도 34b는 마우스의 상응하는 체중 변화를 도시한다. 도 34c-f는 종양 침윤된 면역 세포의 프로파일링 결과를 도시한다. EP415/EP325/EP205는 항-PD1 항체 펄스볼리주맙에 저항성이 있는 H1975 세포에 대한 종양 성장 억제 활성을 보유한다.

[0389] **실시예 19. EP415/EP325/EP205 사이노물구스 원숭이 PK/PD 연구**

[0390] 3.0-5.0 kg의 체중 범위를 갖는 2-5 연령의 비-나이브 사이노물구스 원숭이에 0.1 mg/kg 또는 0.5 mg/kg EP415/EP325/EP205의 단일 용량으로 IV 볼루스 투약하였다. 투약 후, 각각의 선택된 시점에서 혈액을 수집하였다. 혈장 중 약제의 농도를 ELISA 검정에 의해 정량화하고, ng/mL로 표현하였다. 원숭이 혈장에서 검출된 EP415/EP325/EP205의 농도를 시간에 대해 플롯팅하였다. 각각의 동물로부터의 각각의 시점에서의 혈장 농도를 약동학 (PK) 계산에 사용하였다. 곡선하 면적 (AUC)을 사다리꼴 방법을 사용하여 추정하였다. 다른 매개변수를 확립된 방정식을 사용하여 추정하였다.

[0391] 약력학 (PD) 분석을 위해, 혈액을 (0 일차 및 7 일차에 대한 투약 전에) 매일 단리하고, 면역 세포-계통 마커 (CD3, CD4, CD8, CD16, CD45, FOXP3, CD20)에 대해 염색하고, 유세포 분석법에 의해 정량화하였다. 다음의 면역 집단을 정량화하였다: CD4+ FOXP3- T 세포 (CD45+CD3+CD16-CD4+CD8-FOXP3-), CD4+ FOXP3+ T 조절 세포 (CD45+CD3+CD16-CD4+CD8-Foxp3+), CD8+ T 세포 (CD45+CD3+CD16-CD4-CD8+), B 세포 (CD45+CD3-CD16-CD20+) 및 자연 살해 (NK) 세포 (CD45+CD3-CD16+CD20-). 이들 집단 각각에 대한 원시 갯수를 관찰된 세포 이벤트의 총 수로 정규화하고, 시간에 대해 플롯팅하였다. 도 35a는 ELISA에 의해 원숭이 혈장에서 검출되고 시간에 대해 플롯

팅된 EP415/EP325/EP205의 농도를 도시한다. 도 35b-c는 EP415/EP325/EP205를 투약한 후 원숭이 혈액에서 면역 세포 집단의 백분율을 도시한다. CD8+ T 세포 집단의 증가가 각각의 용량 후 관찰되었지만, CD4+ FOXP3+ T조절의 수준은 기준선에서 유지되었다.

[0392] 참조에 의한 원용

[0393] 반대로 명시되지 않는 한, 본원에 언급된 특허 문서 및 과학 기사 각각의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참조로 원용된다.

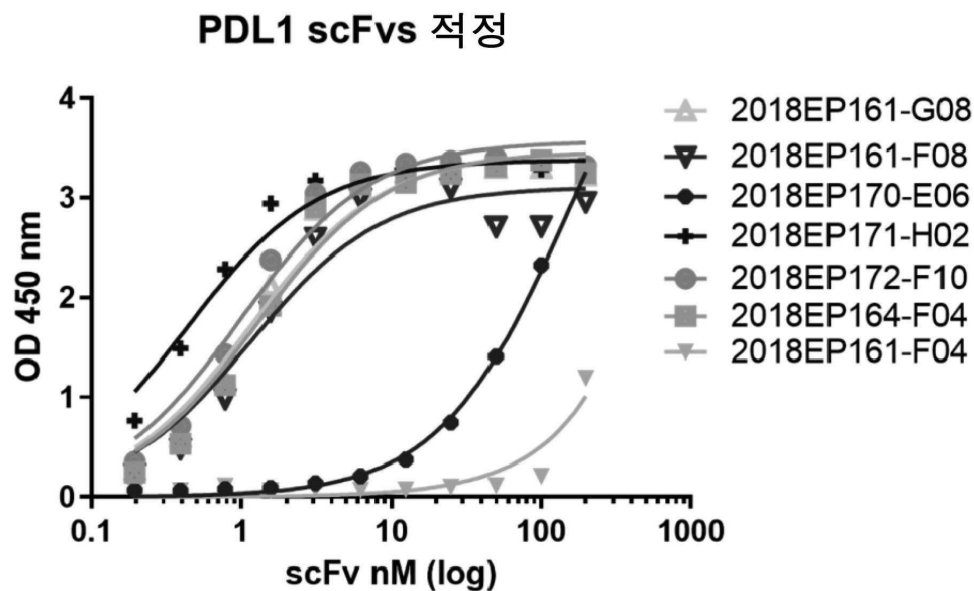
[0394] 등가물

[0395] 출원서에 기재된 항원-결합 부위는 이의 사상 또는 본질적인 특징으로부터 벗어나지 않으면서 다른 특이적 형태로 구현될 수 있다. 따라서, 전술한 실시양태는 본원에 기재된 항원-결합 부위를 제한하기보다는 모든 면에서 예시적인 것으로 간주되어야 한다. 따라서, 본 출원의 범주는 전술한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 나타내어지며, 청구범위의 의미 및 균등 범위 내에 있는 모든 변화는 본원에 포괄되는 것으로 의도된다.

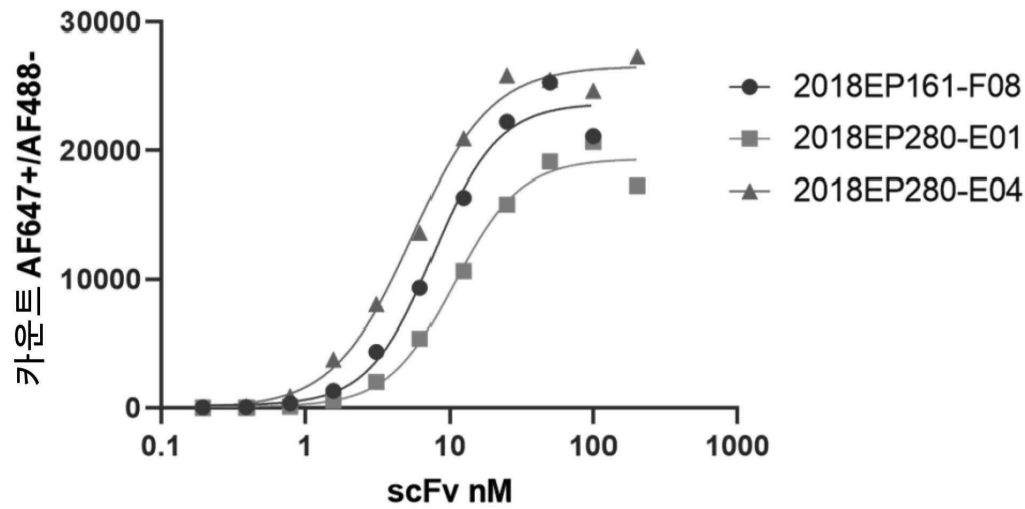
[0396] 본 출원은 2021 년 1 월 22 일자로 출원된 미국 가출원 번호 63/140,749에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 이 출원은 그 전체가 참조로 본원에 원용된다.

도면

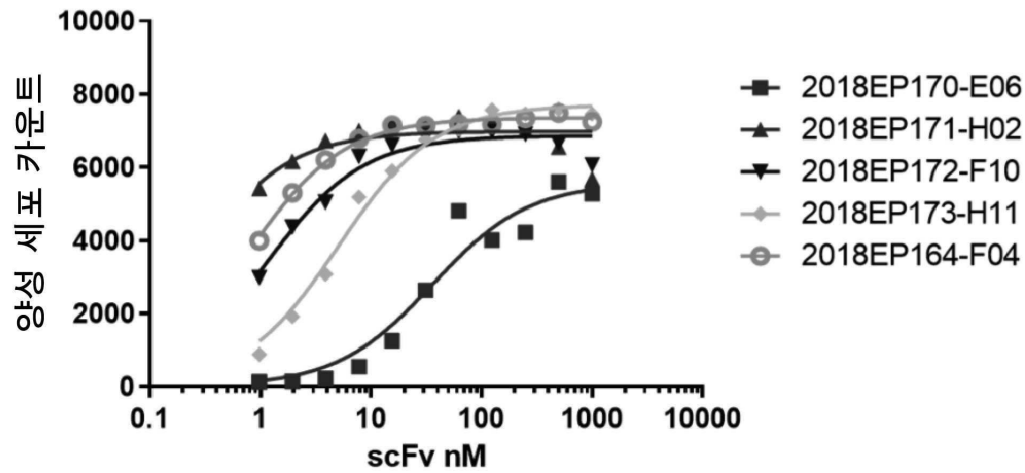
도면1



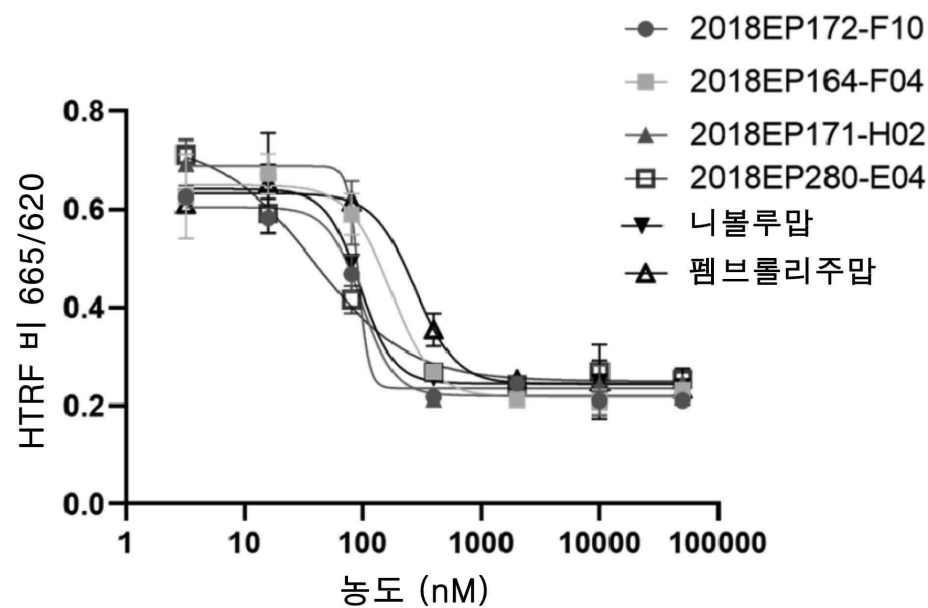
도면2a



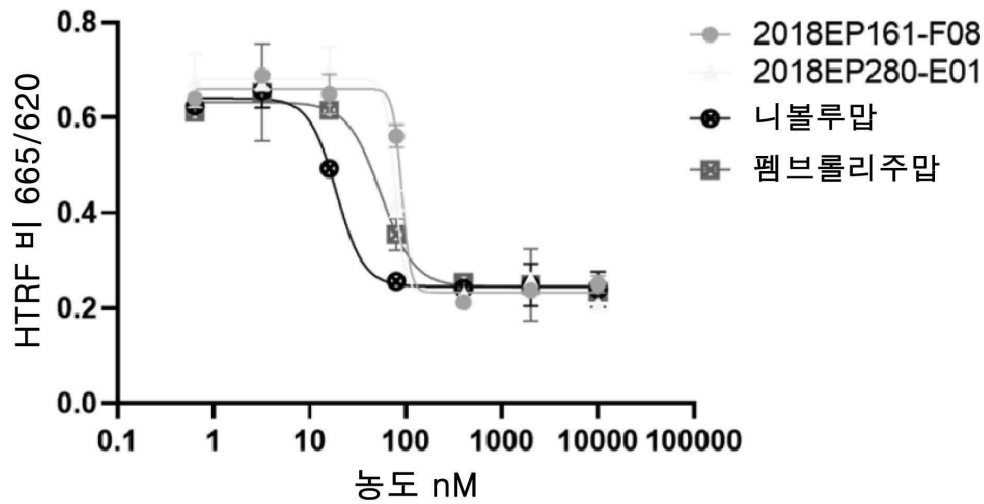
도면2b



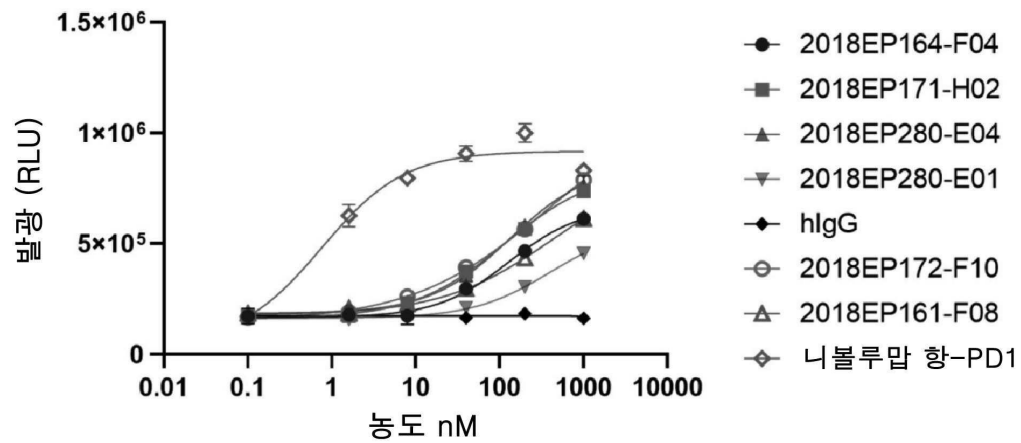
도면3a



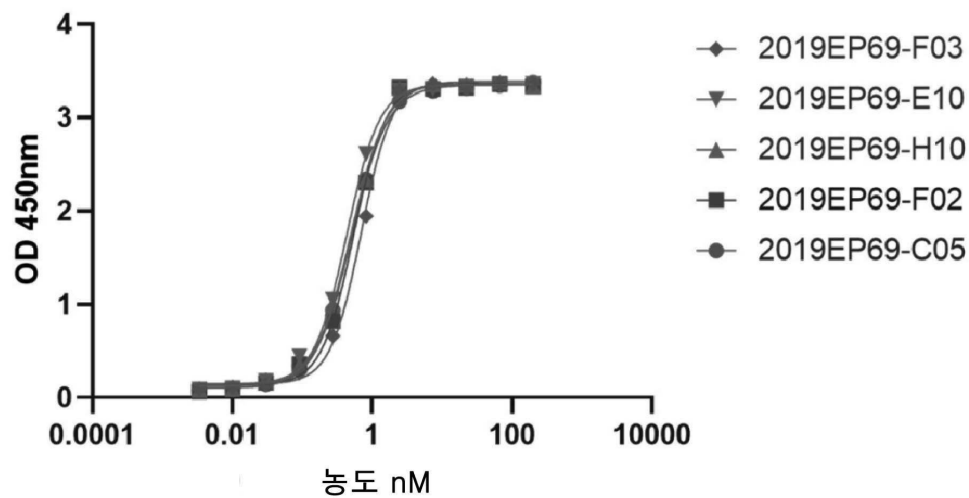
도면3b



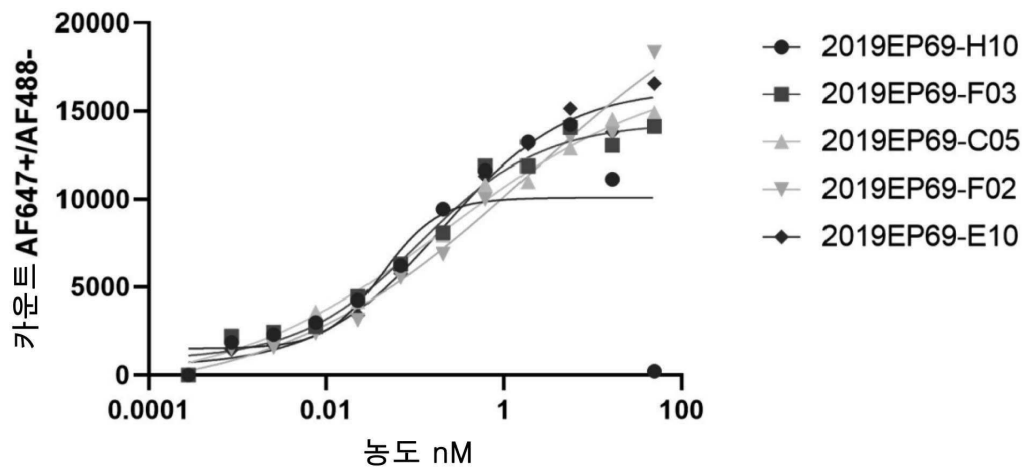
도면4



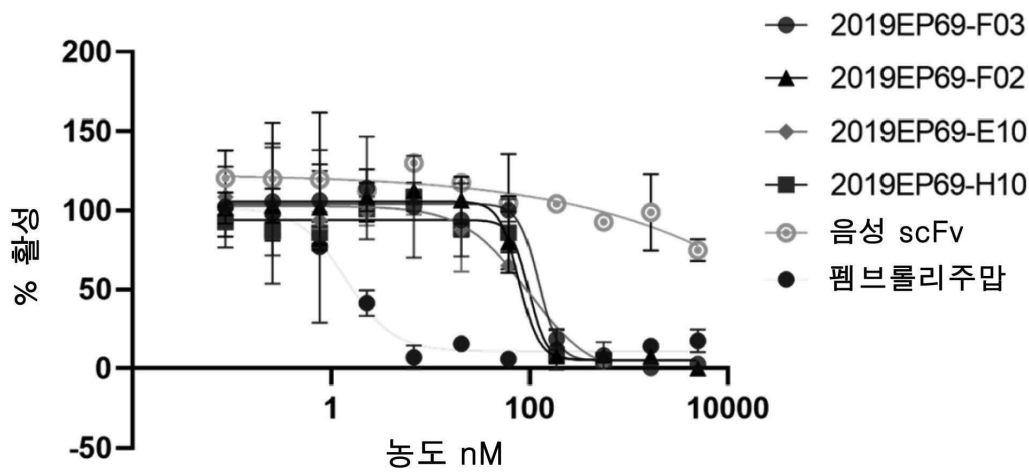
도면5



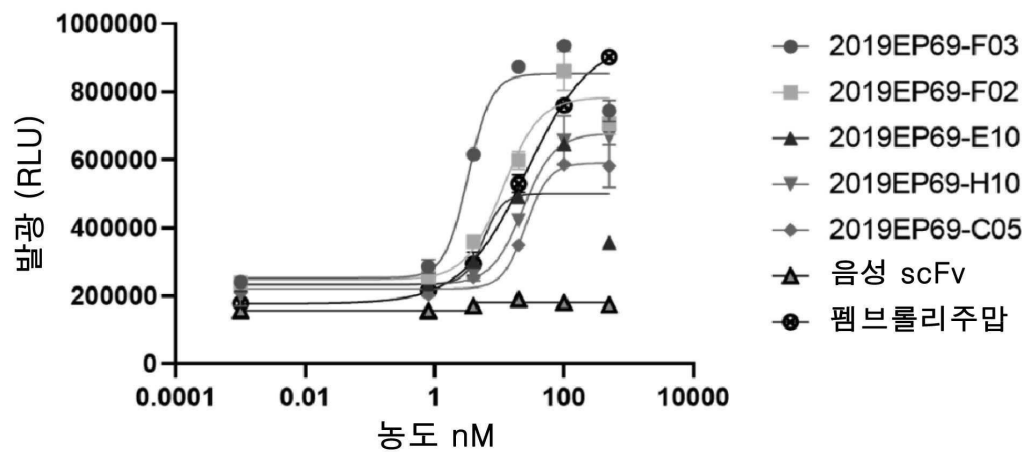
도면6



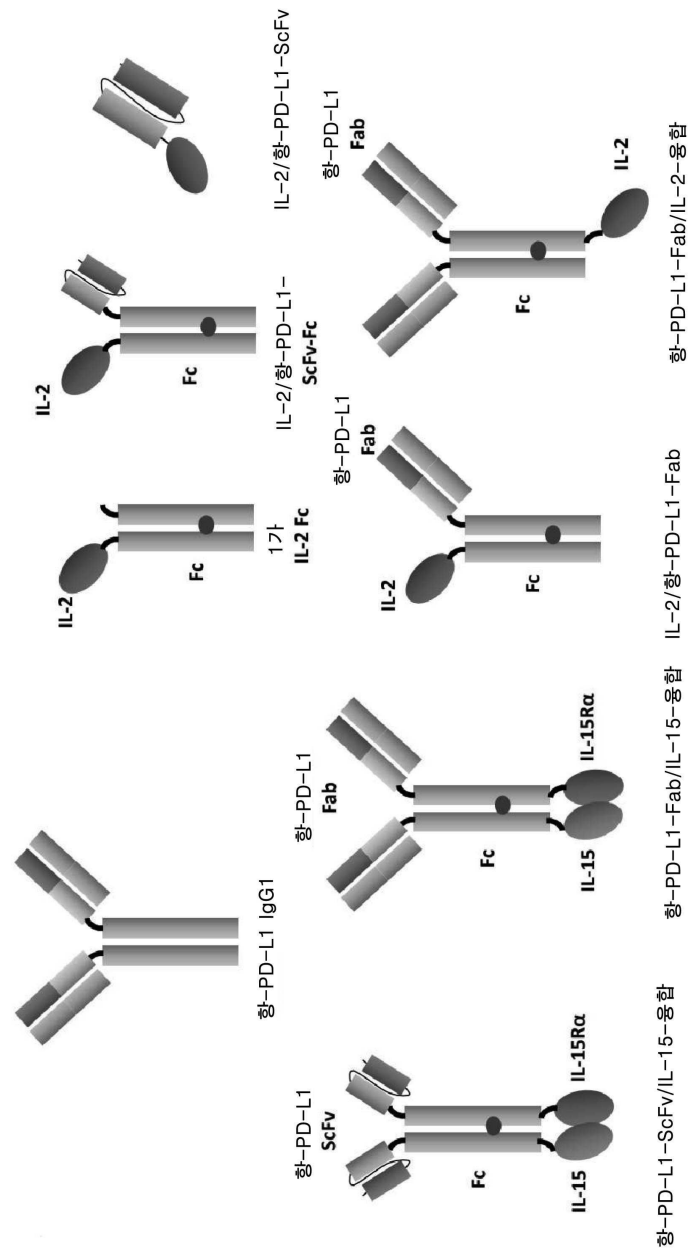
도면7



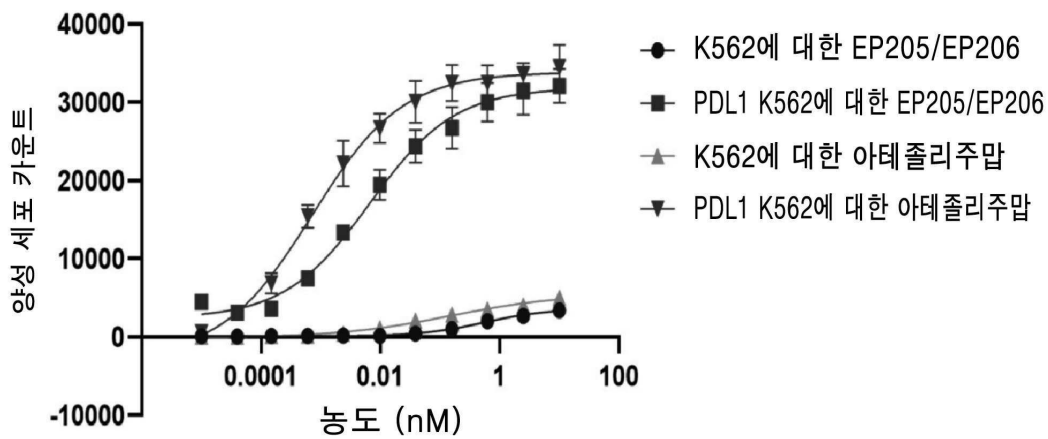
도면8



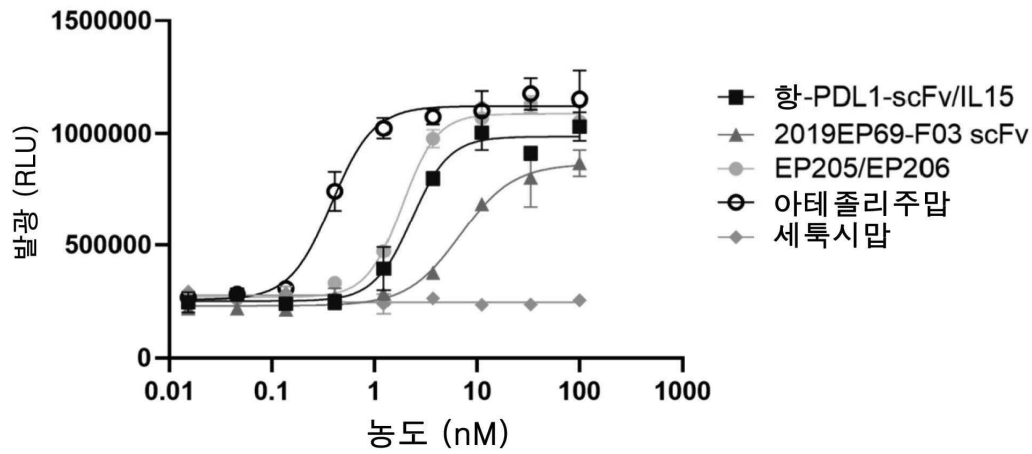
도면9



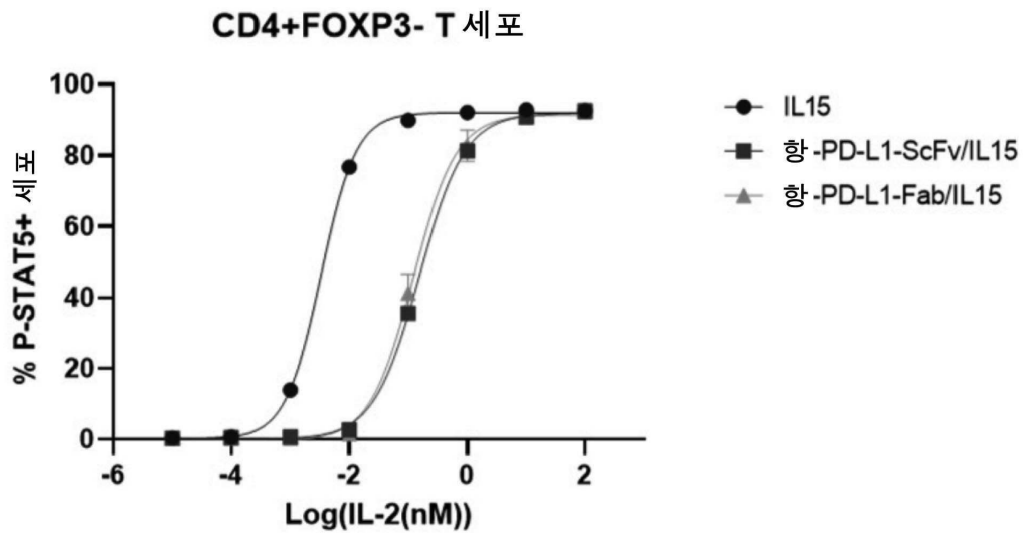
도면10



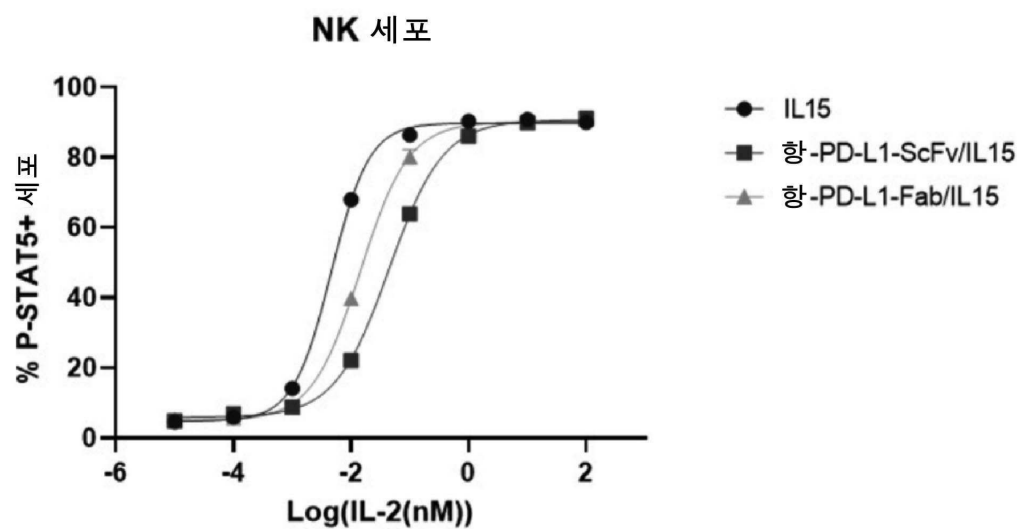
도면11



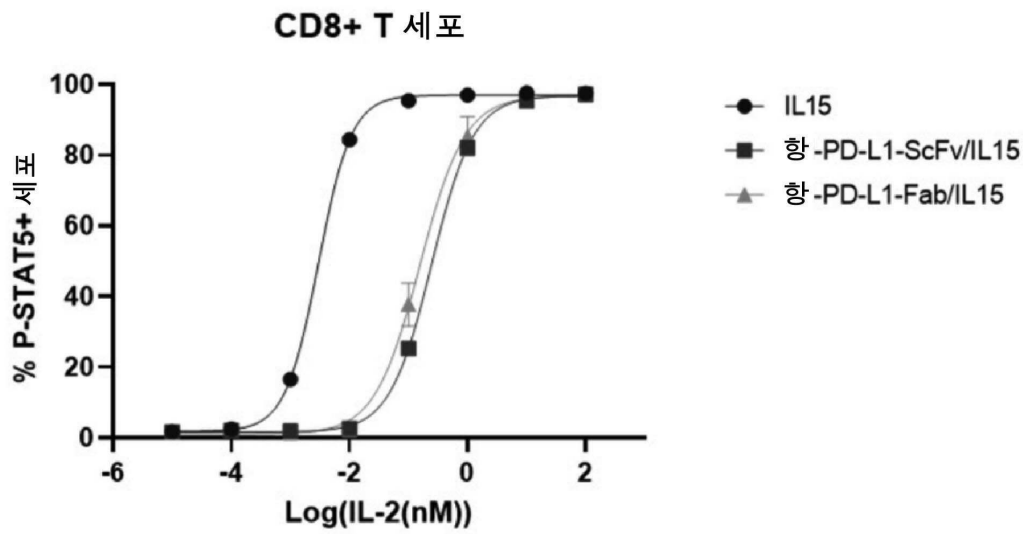
도면12a



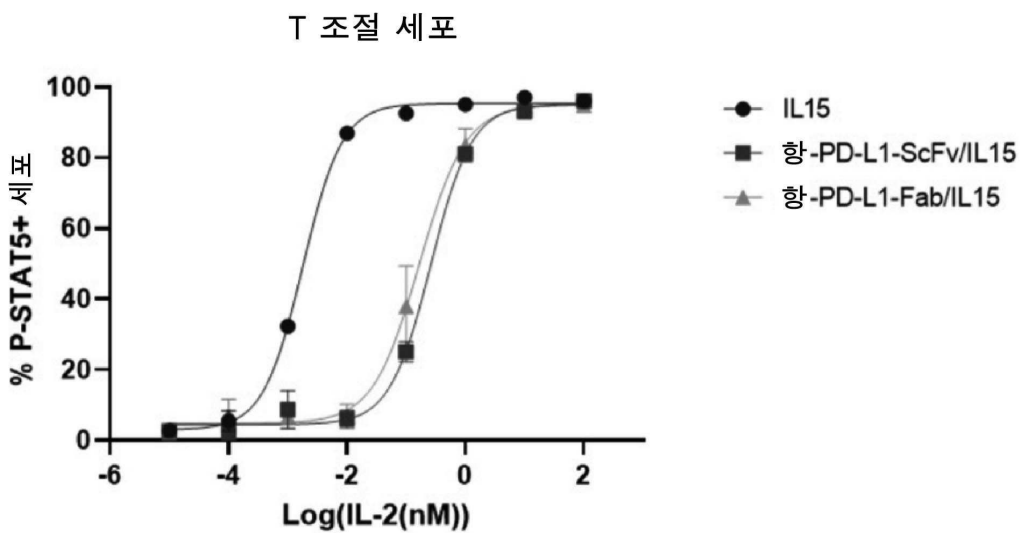
도면12b



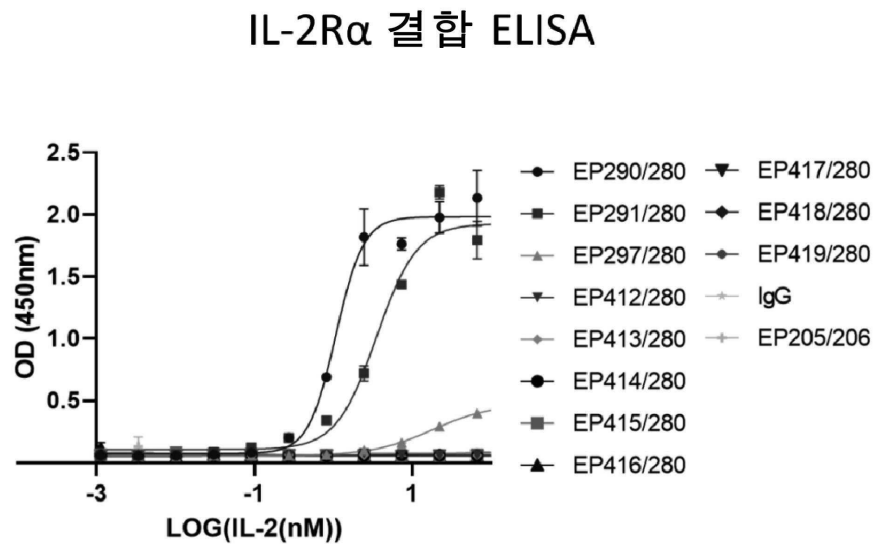
도면12c



도면12d

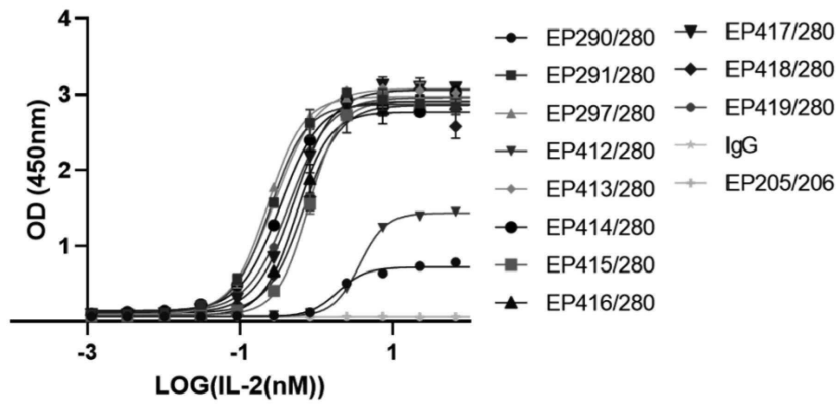


도면13a

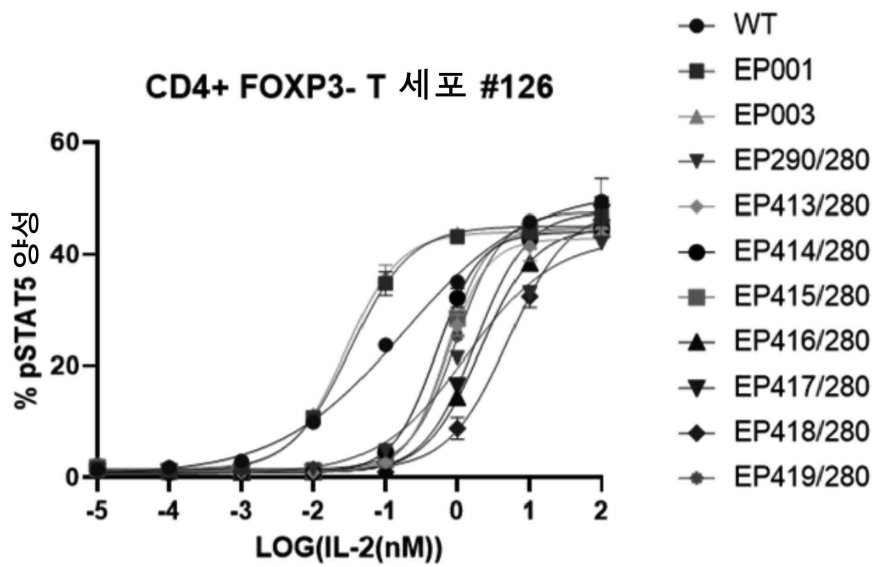


도면13b

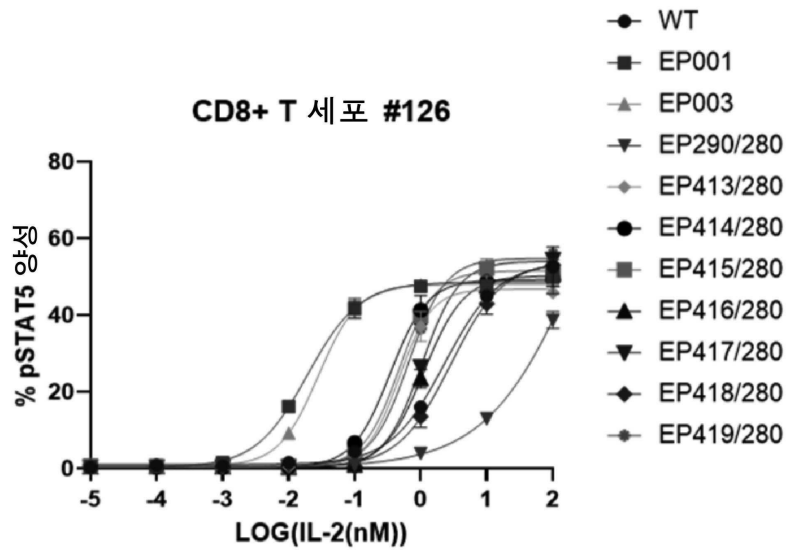
IL-2R β 결합 ELISA



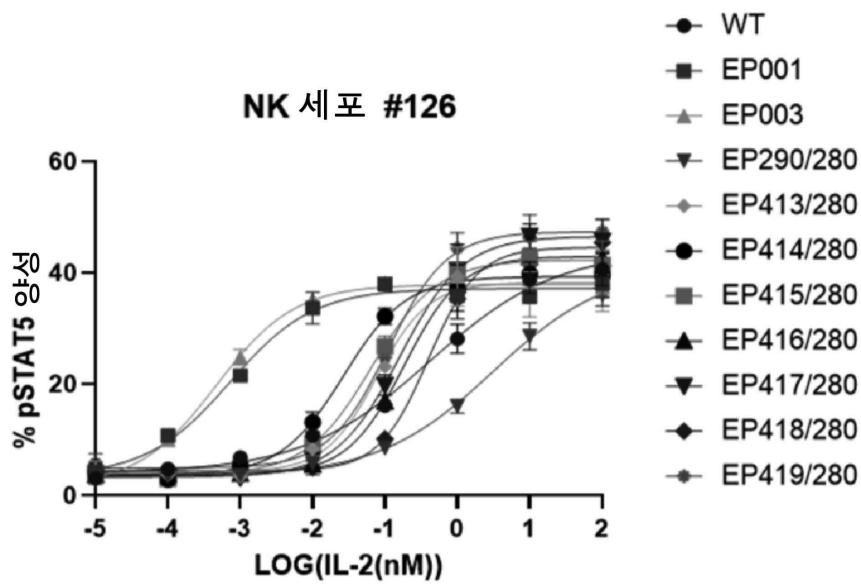
도면14a



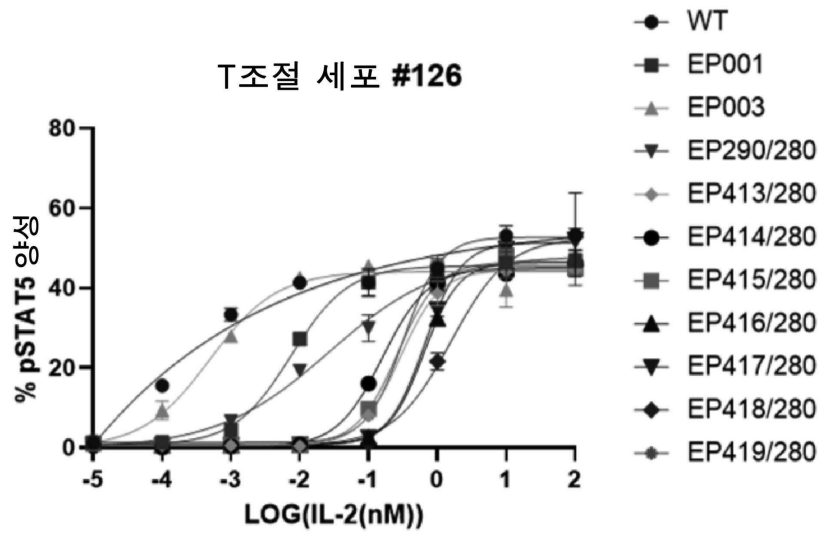
도면14b



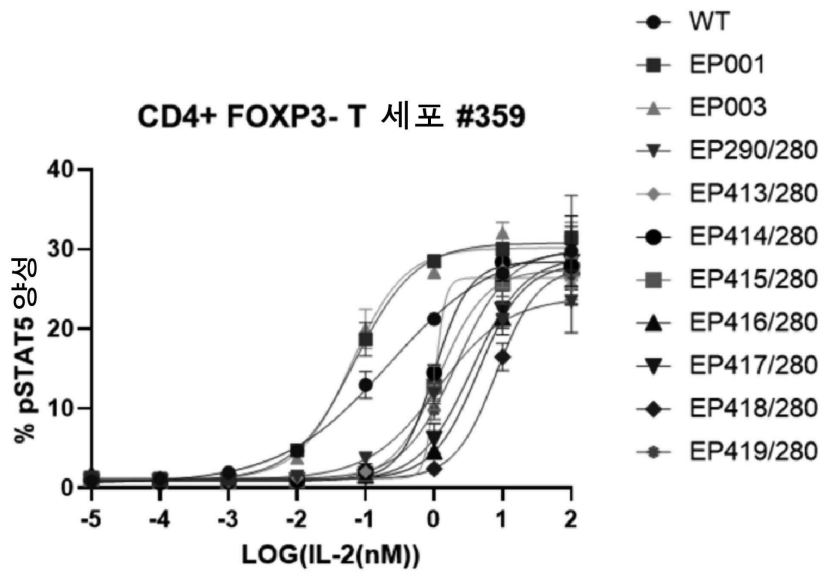
도면14c



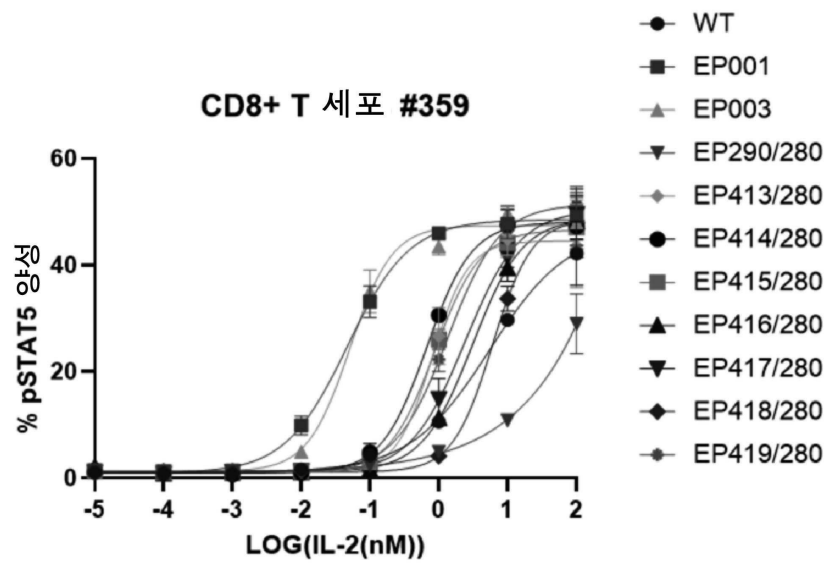
도면14d



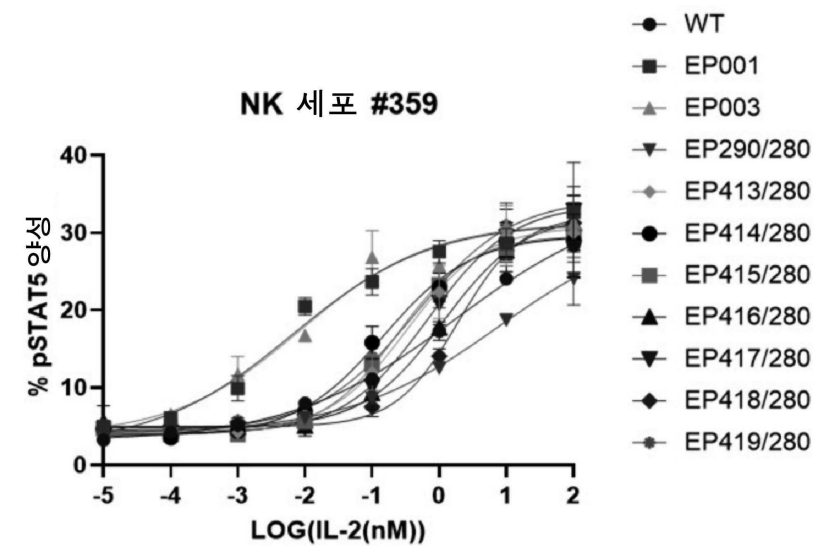
도면14e



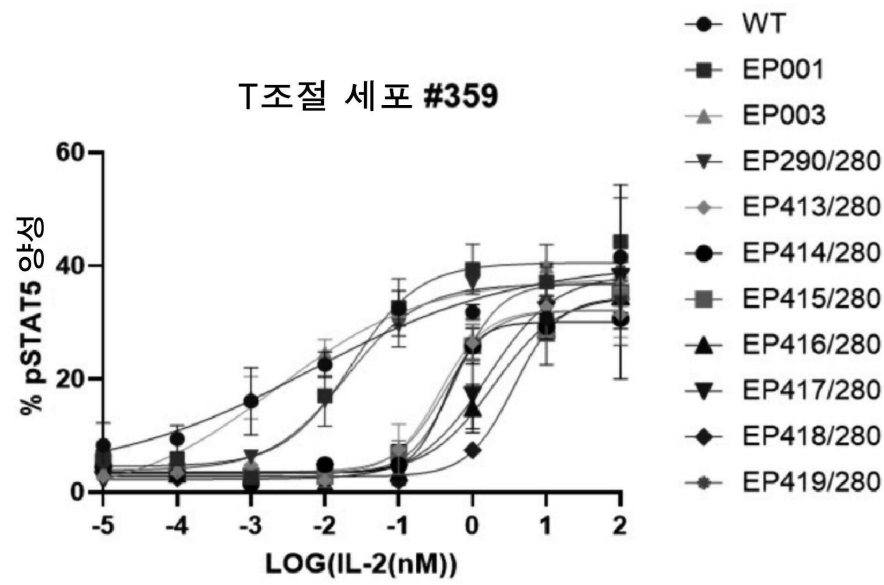
도면14f



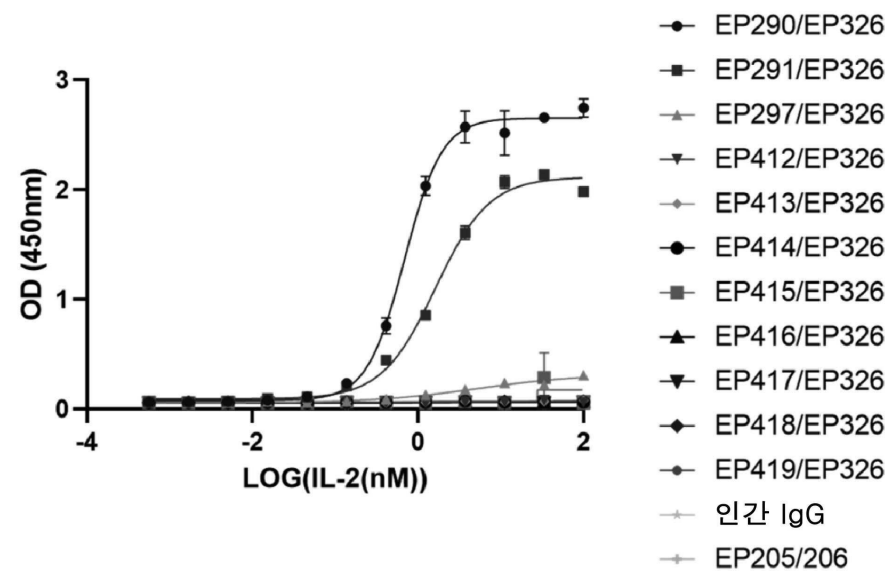
도면14g



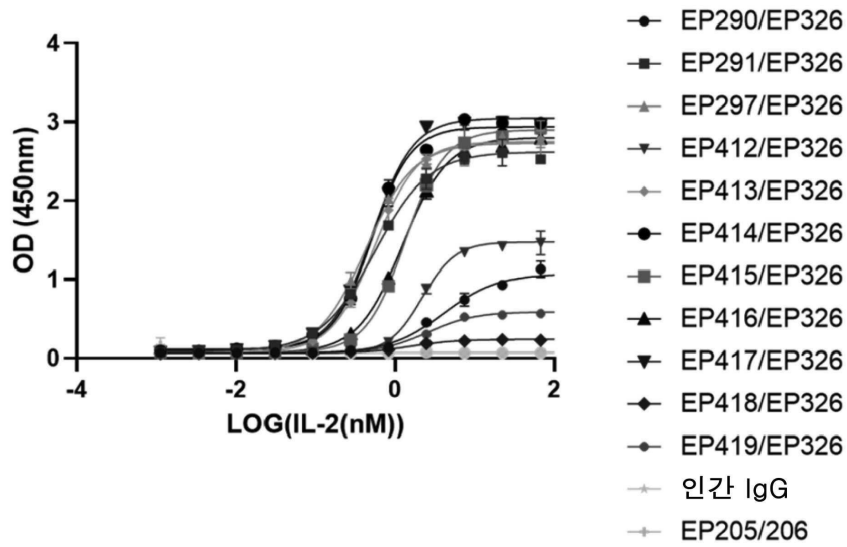
도면14h



도면15a

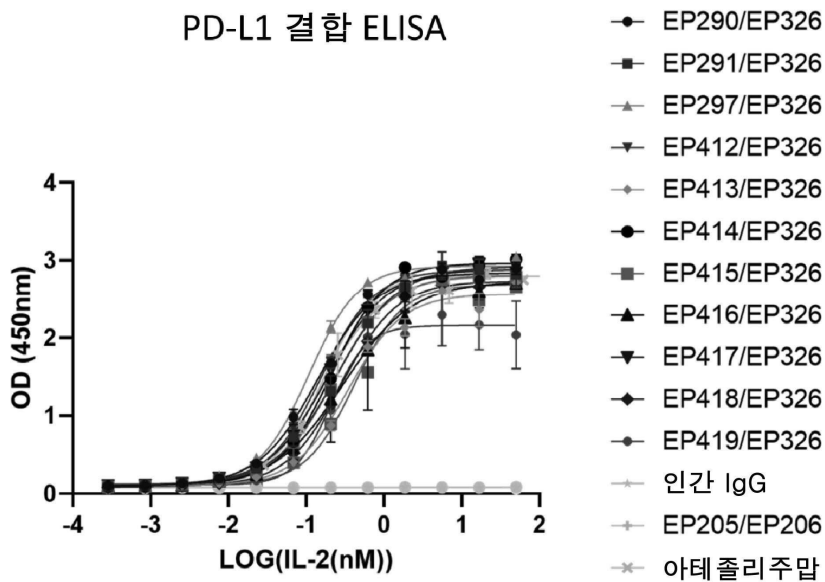


도면15b

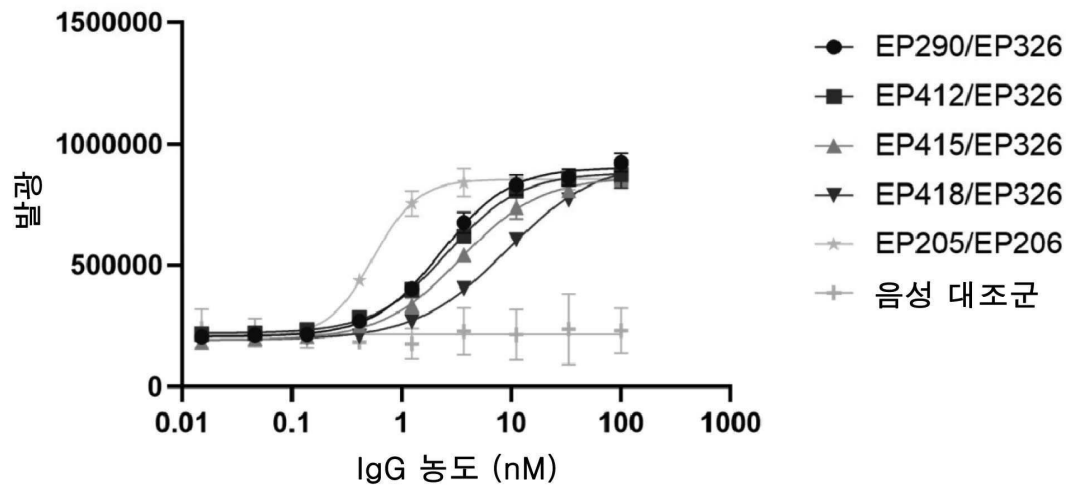


도면15c

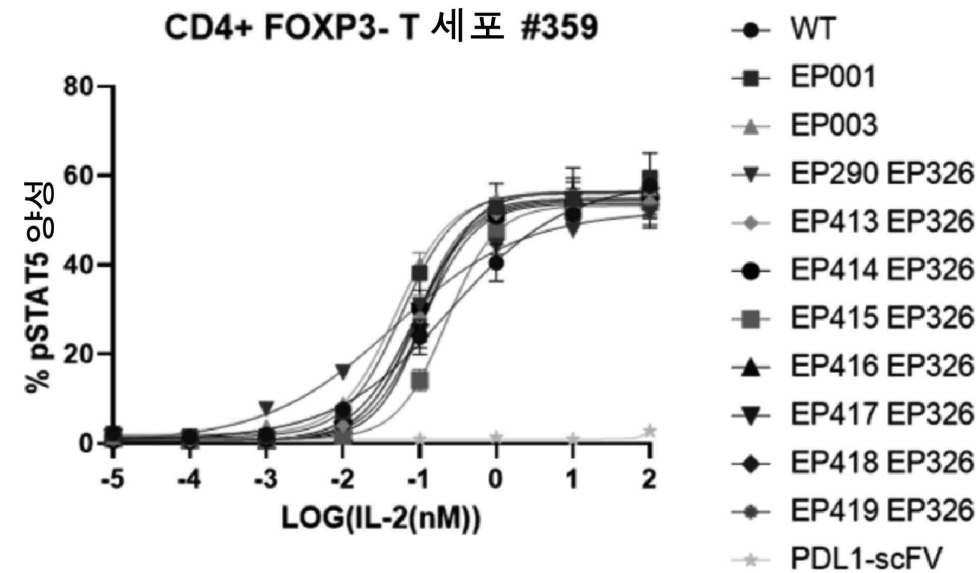
PD-L1 결합 ELISA



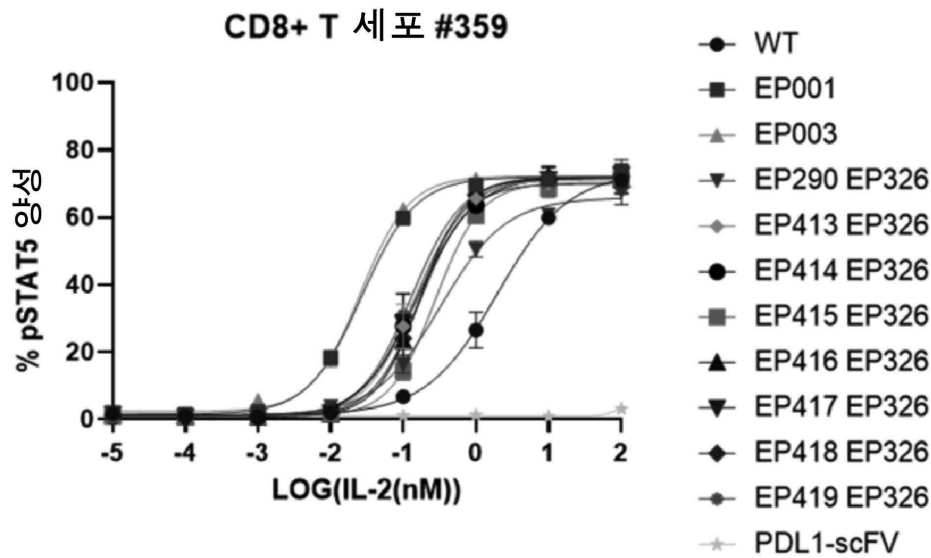
도면16



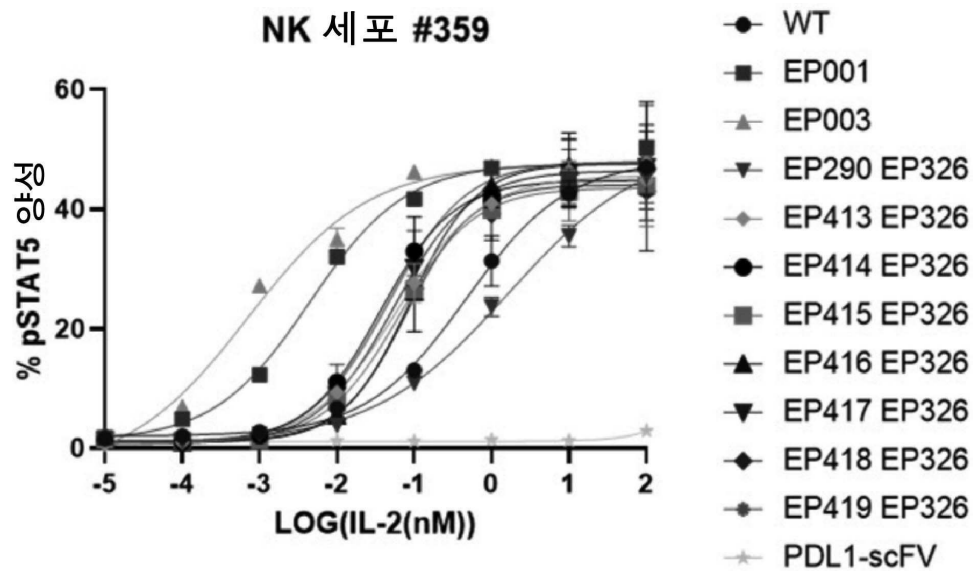
도면17a



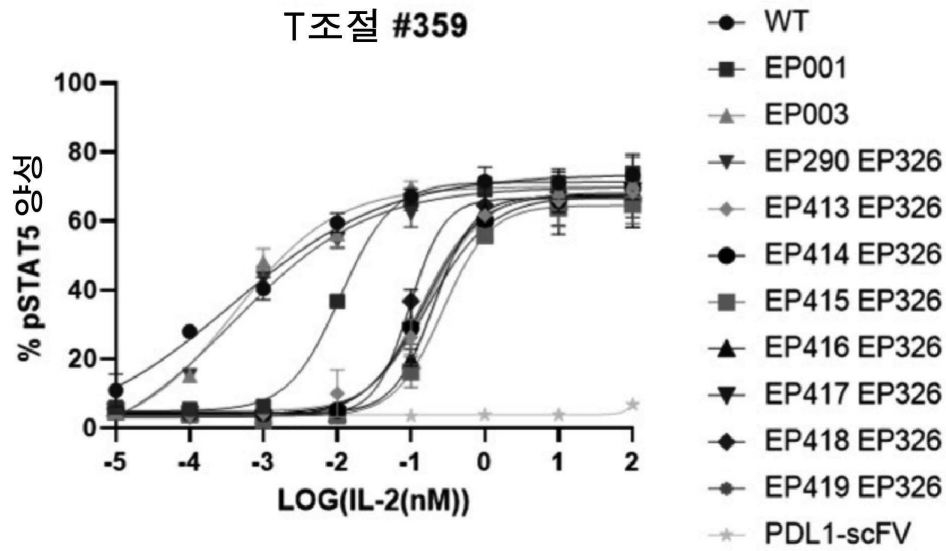
도면17b



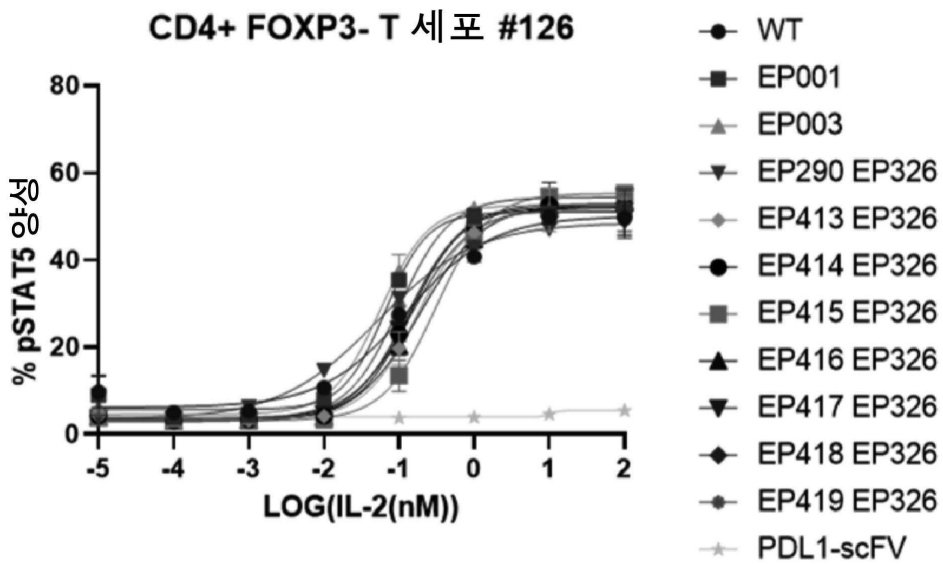
도면17c



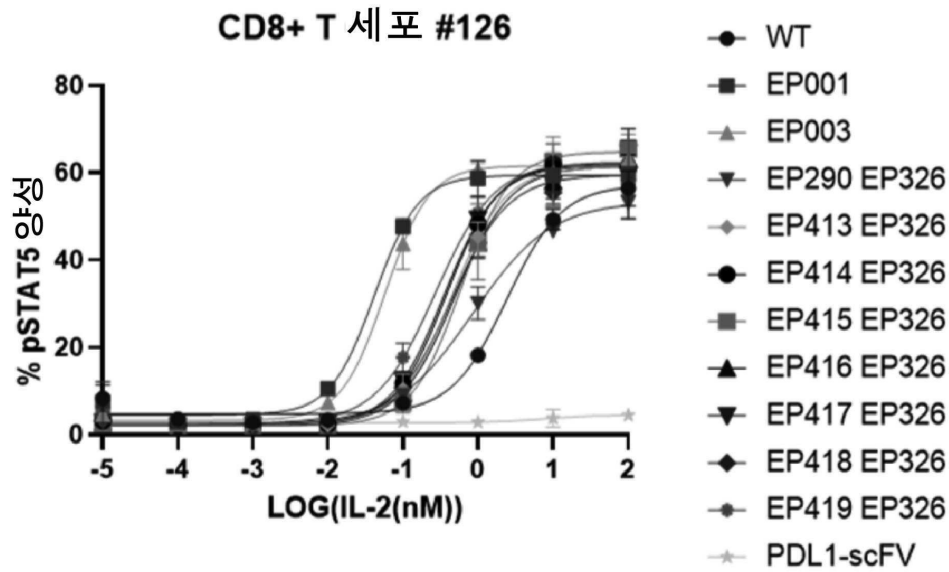
도면17d



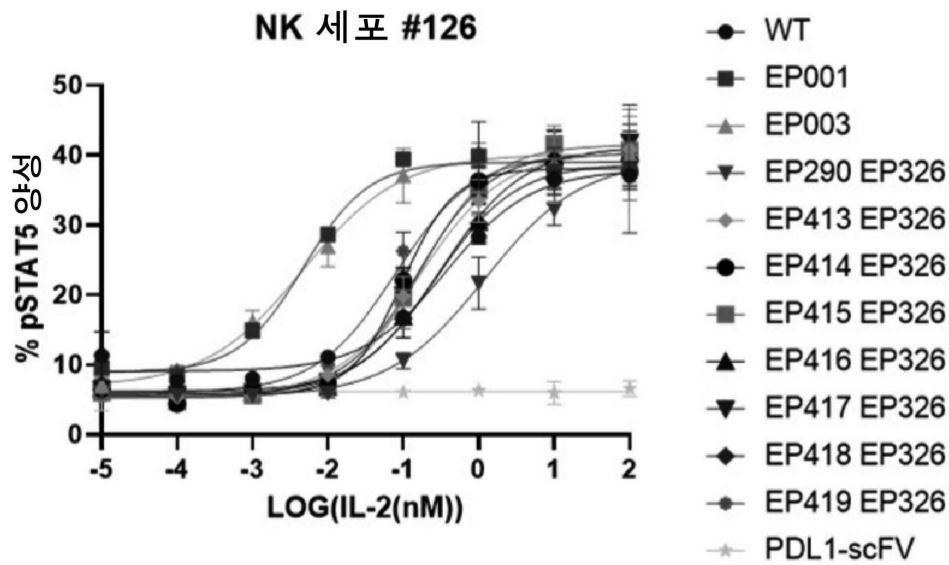
도면17e



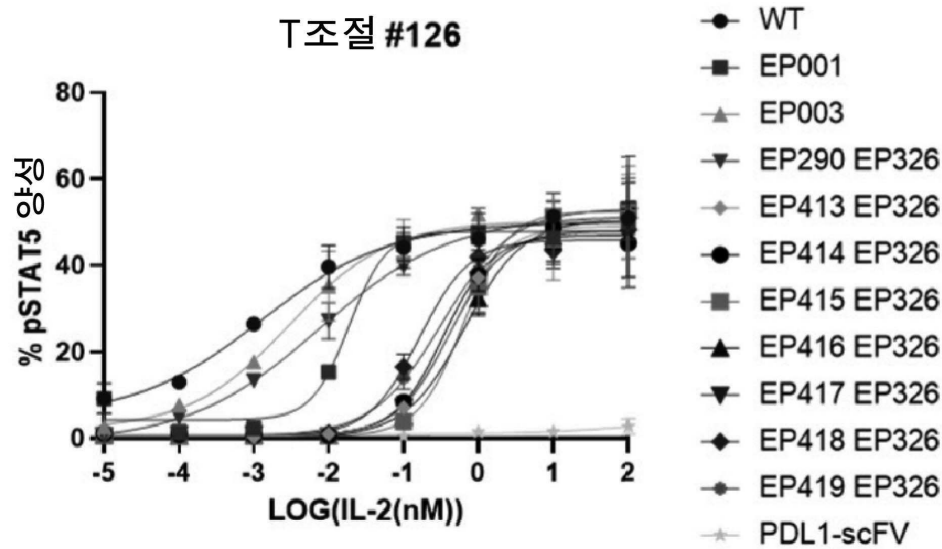
도면17f



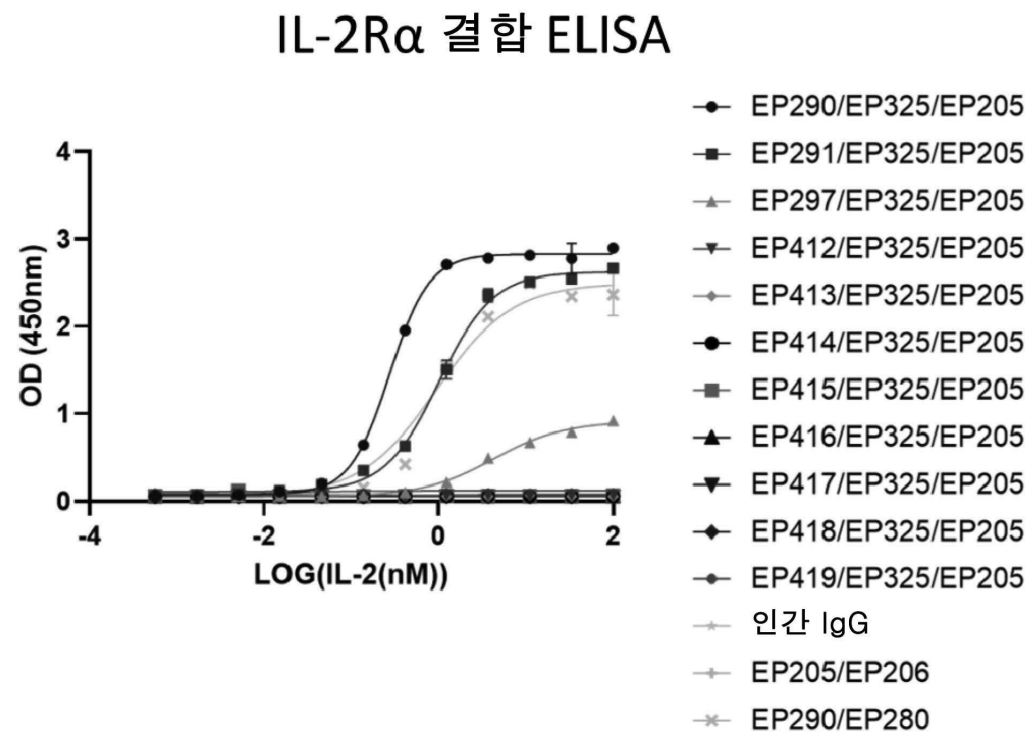
도면17g



도면17h

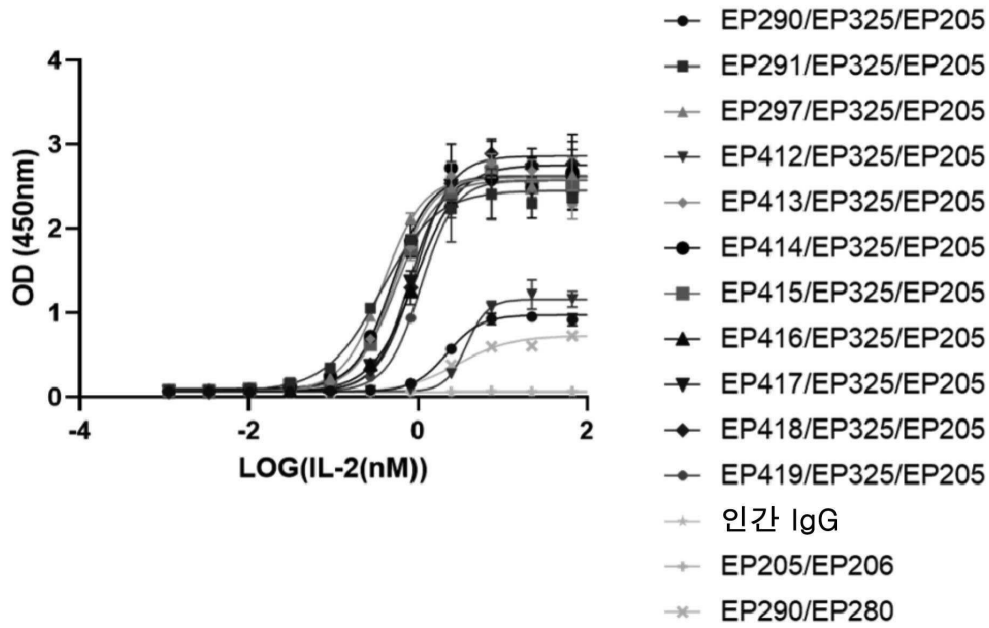


도면18a

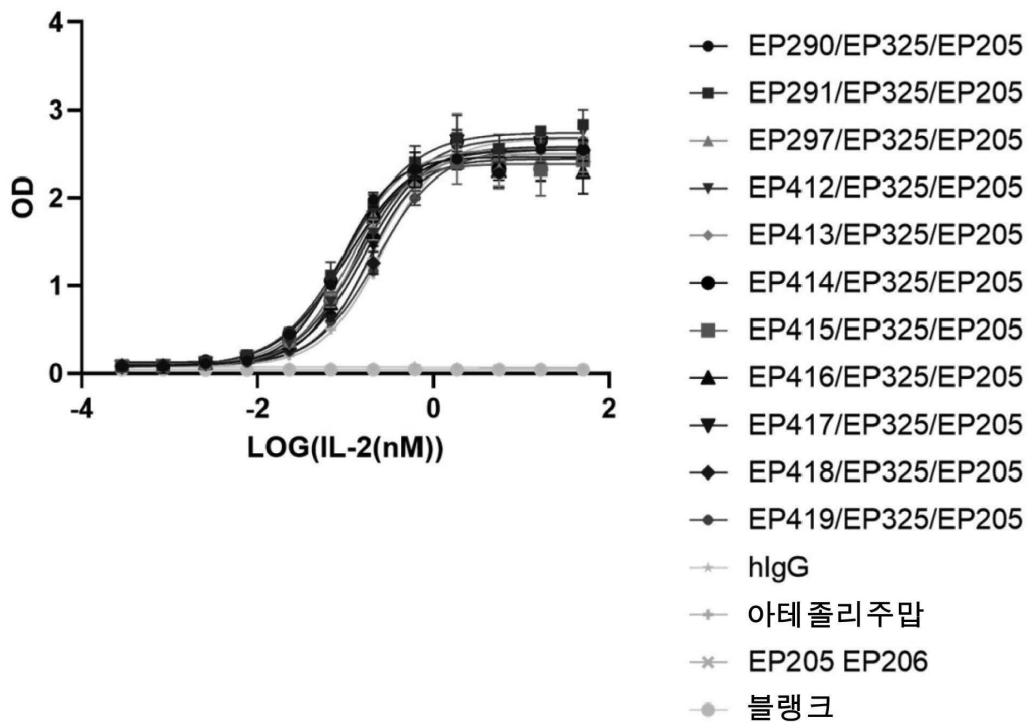


도면18b

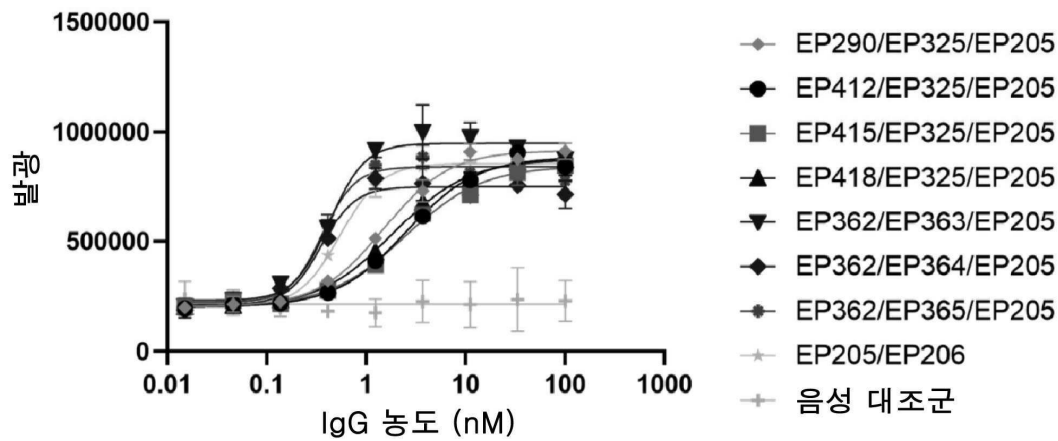
IL-2R β 결합 ELISA



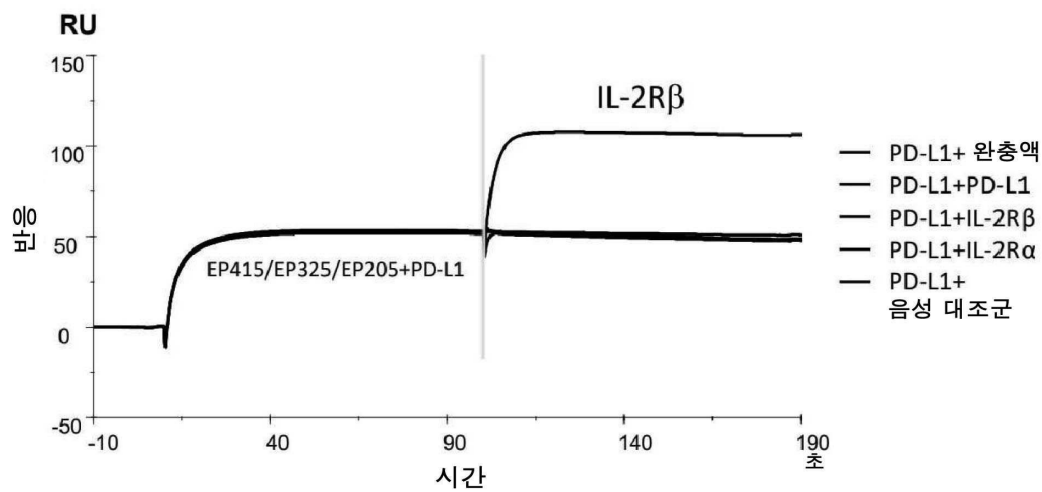
도면18c



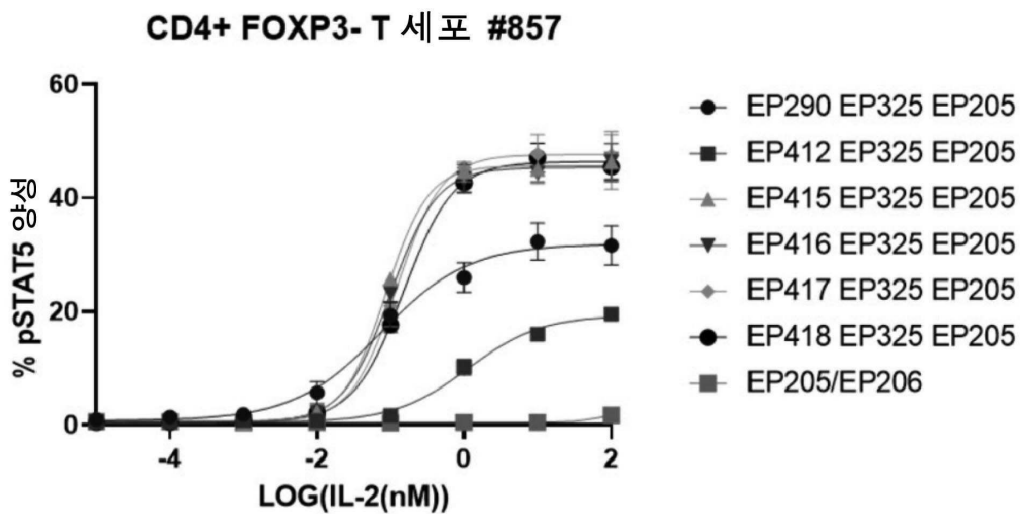
도면19



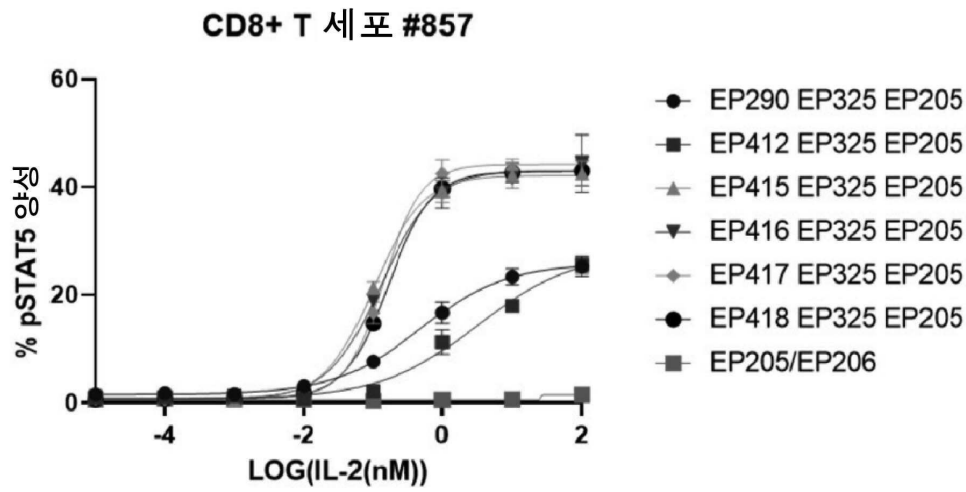
도면20



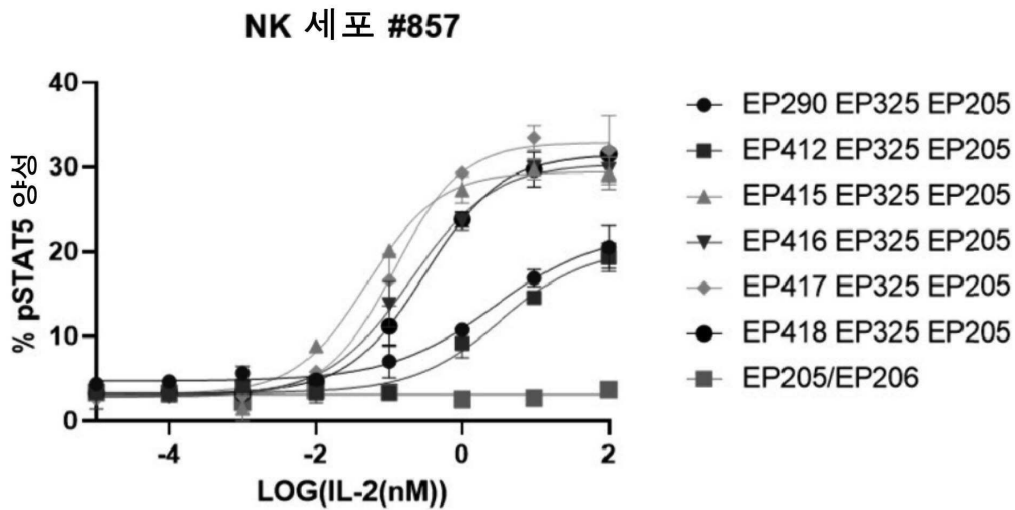
도면21a



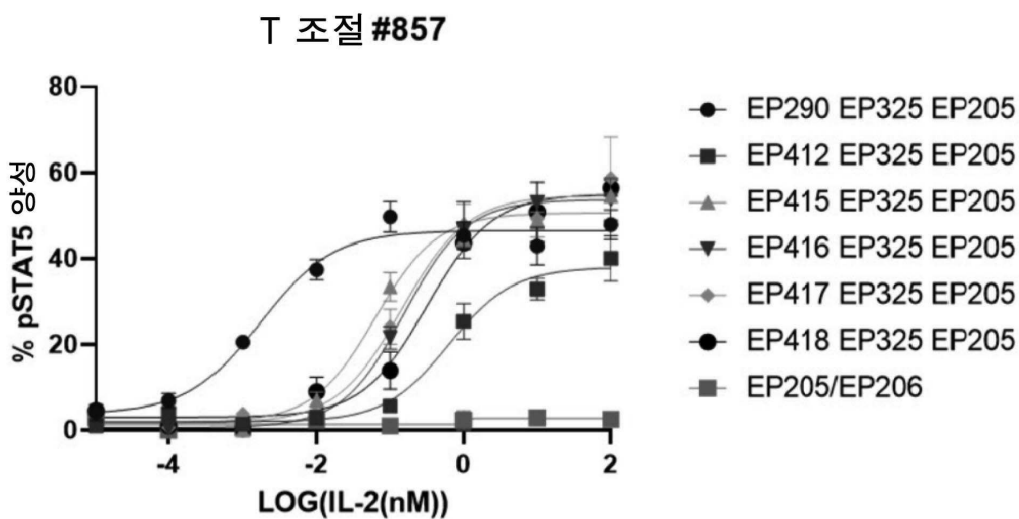
도면21b



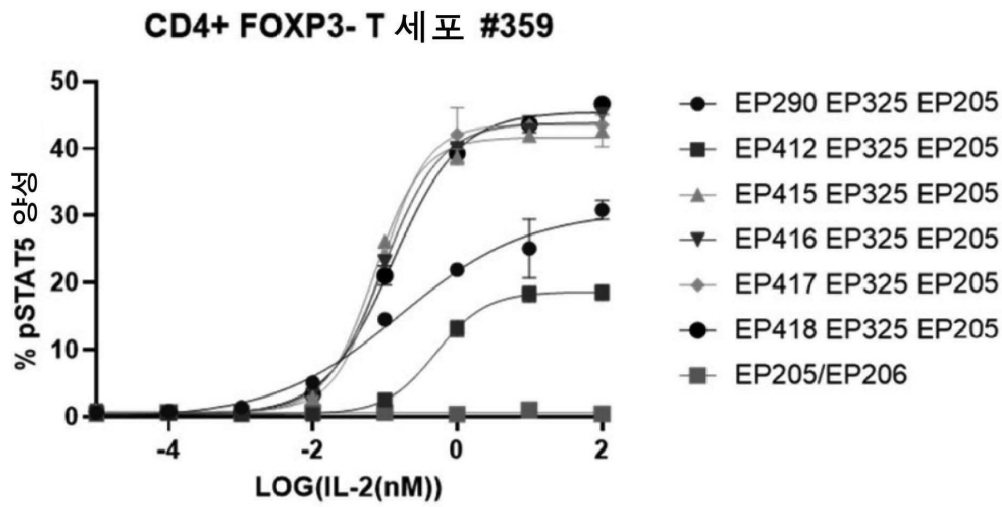
도면21c



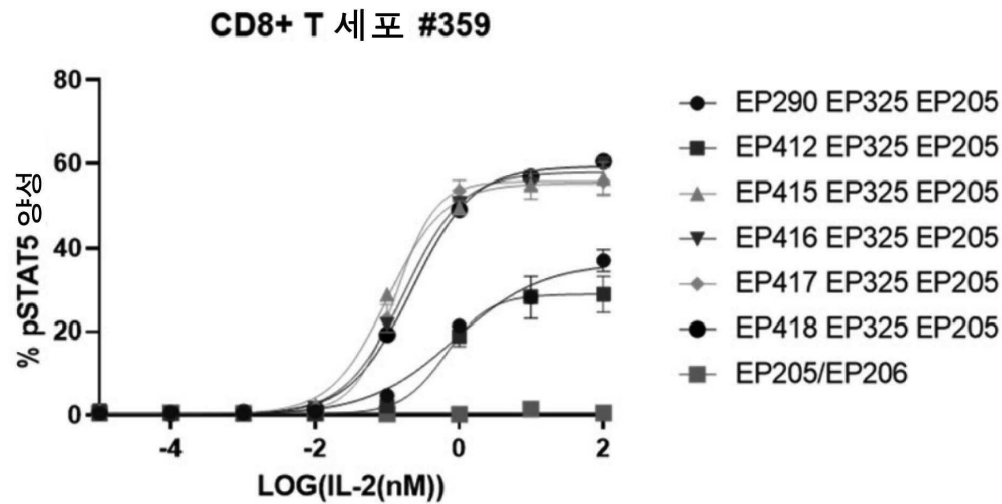
도면21d



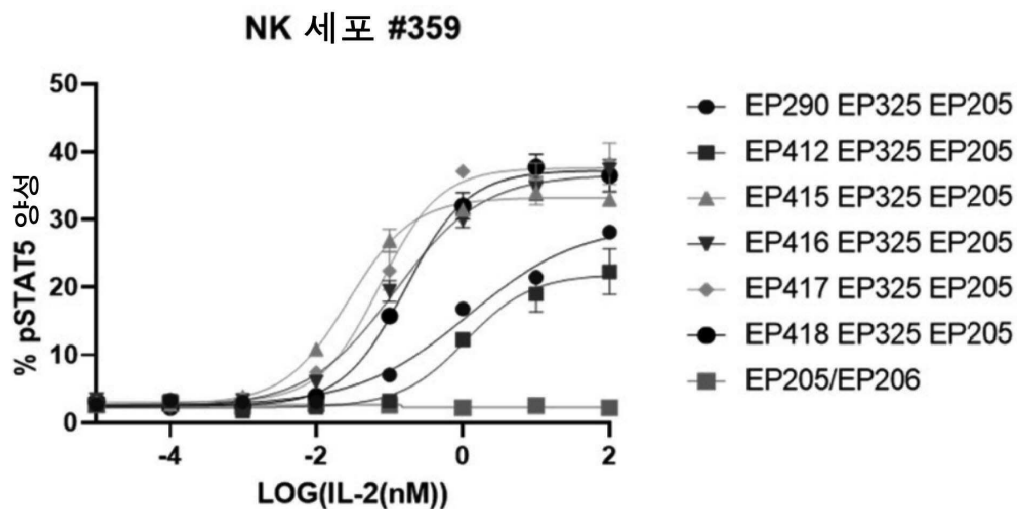
도면21e



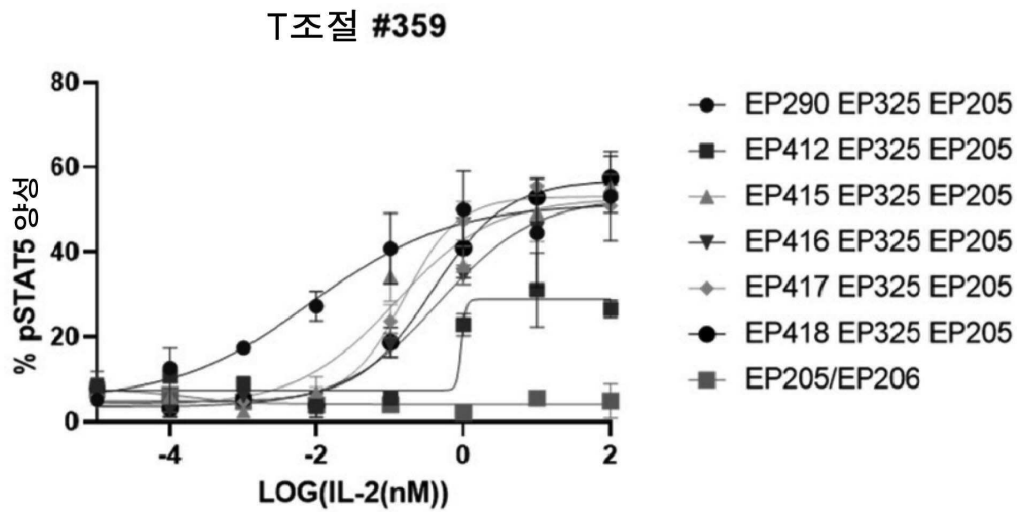
도면21f



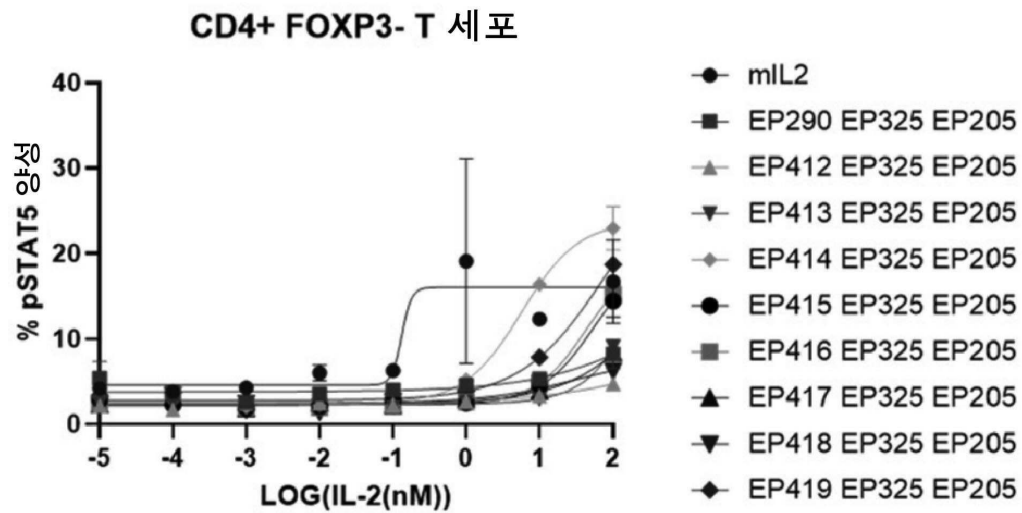
도면21g



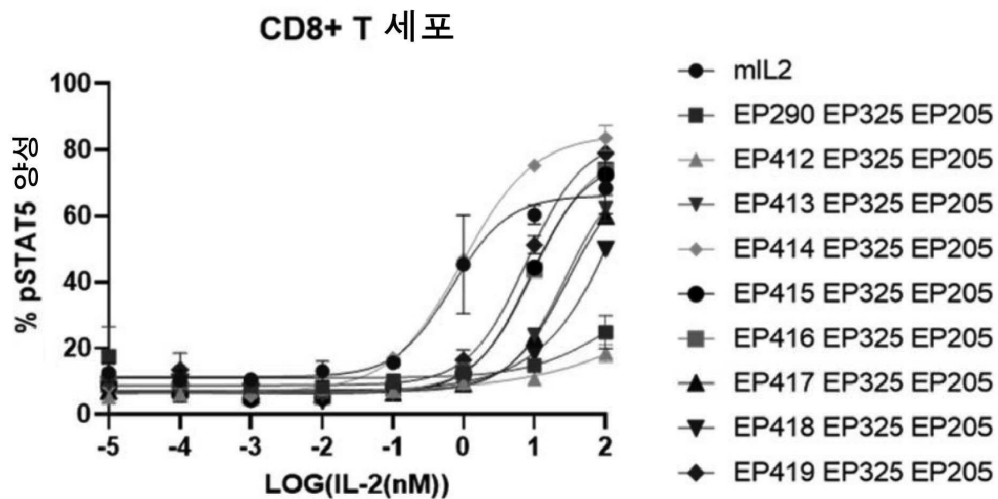
도면21h



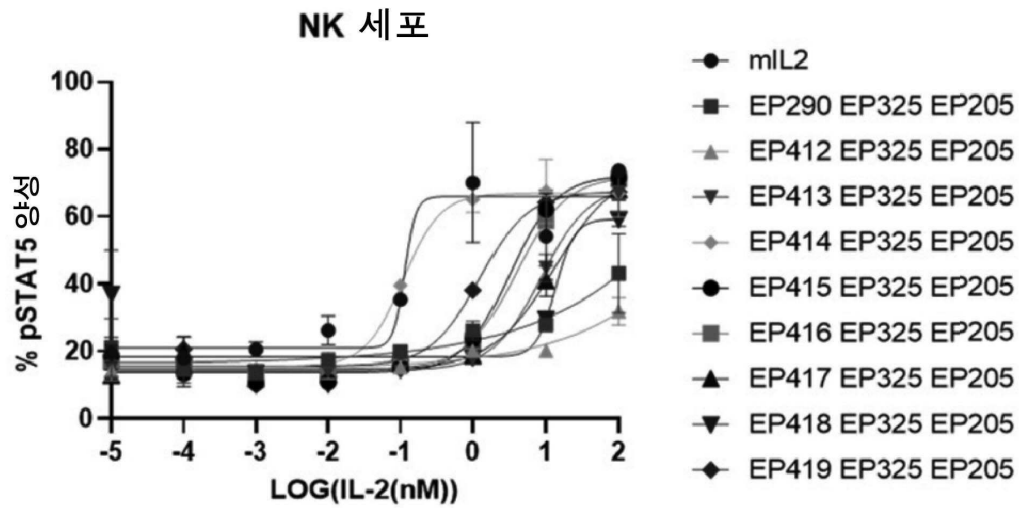
도면22a



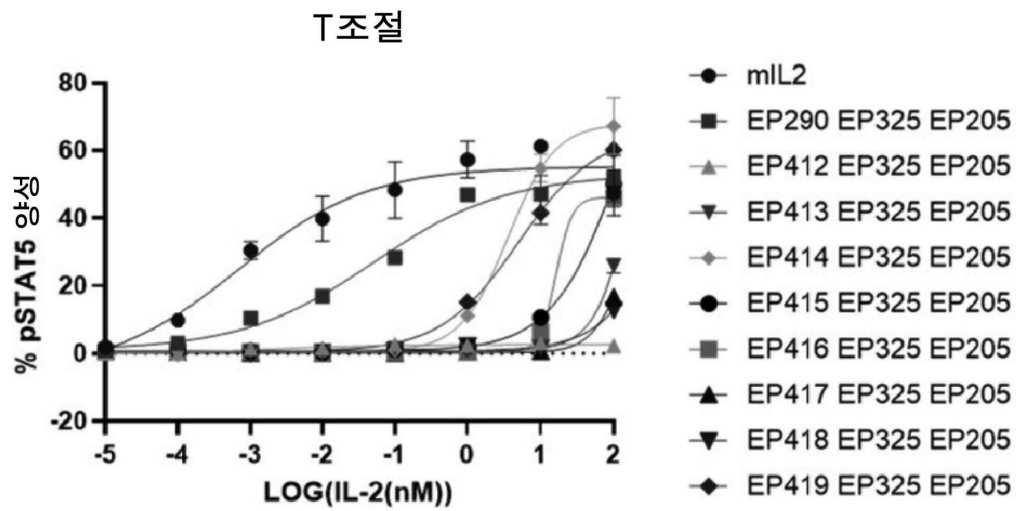
도면22b



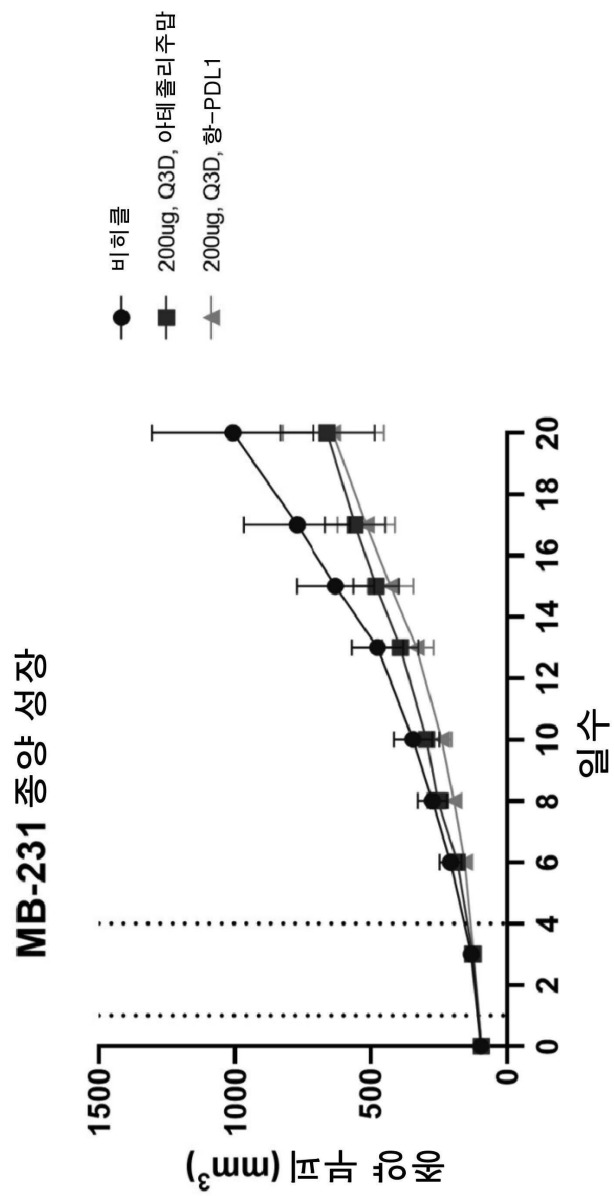
도면22c



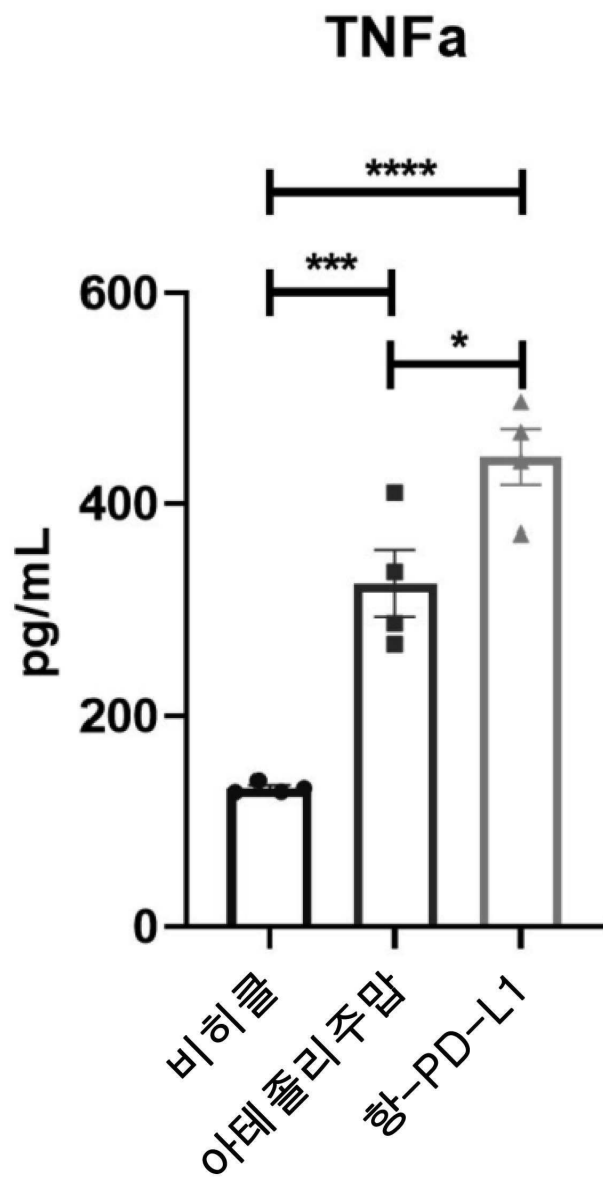
도면22d



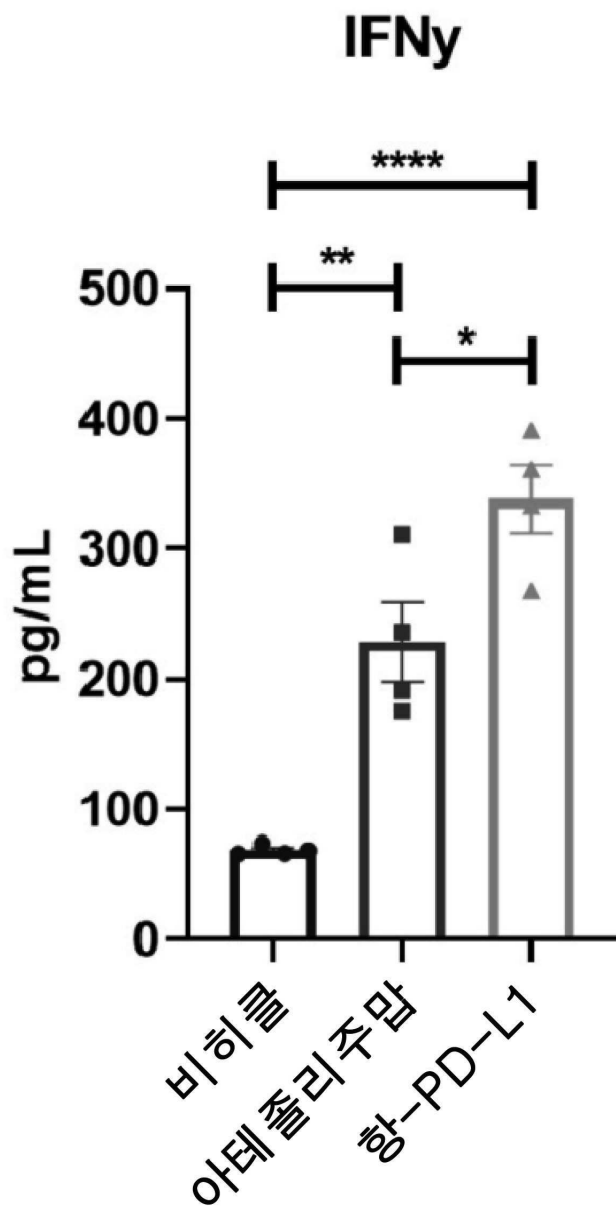
도면23



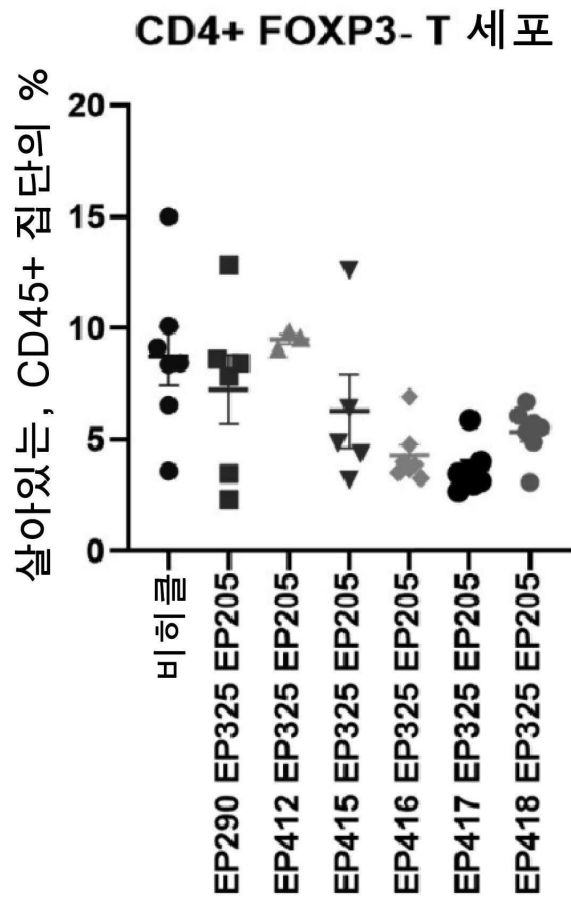
도면24a



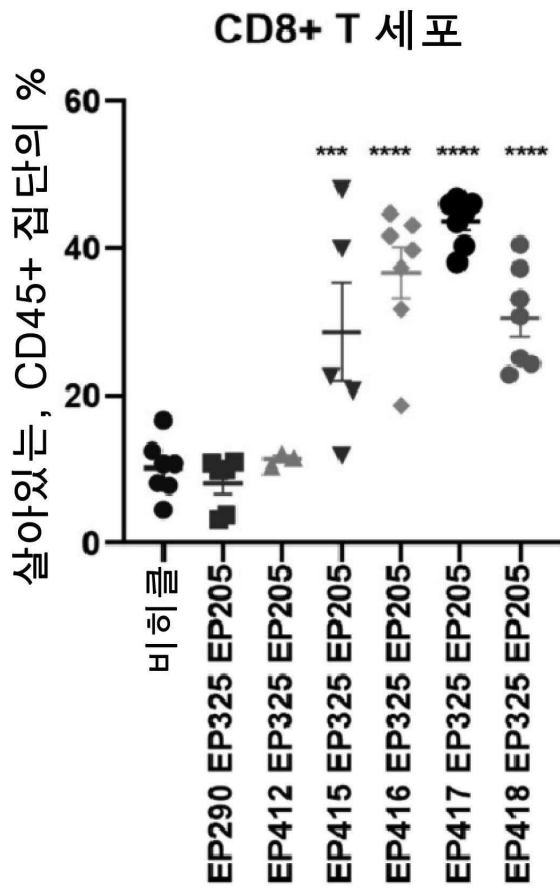
도면24b



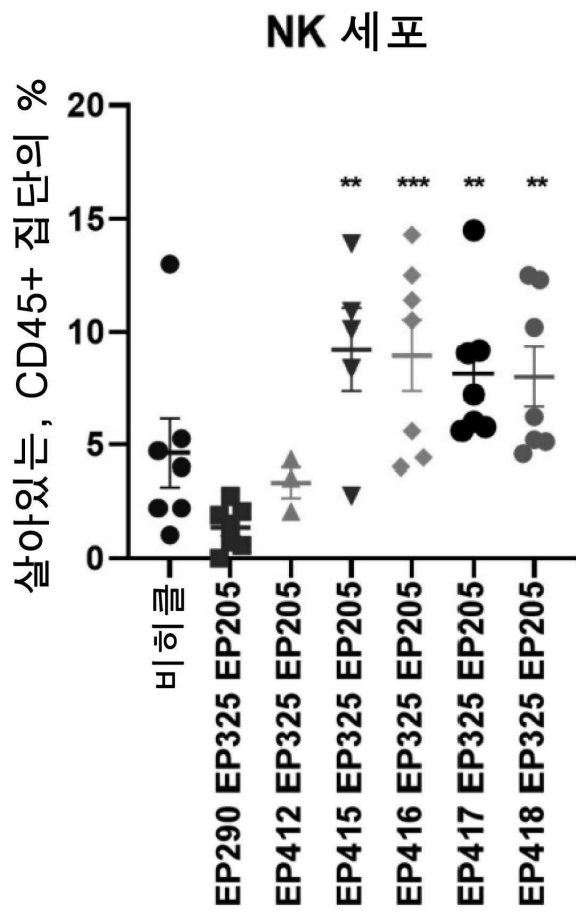
도면25a



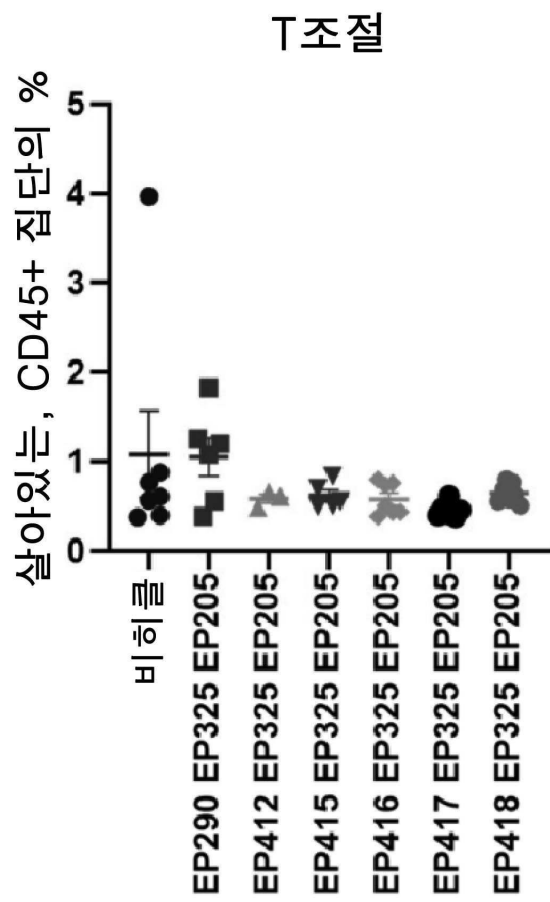
도면25b



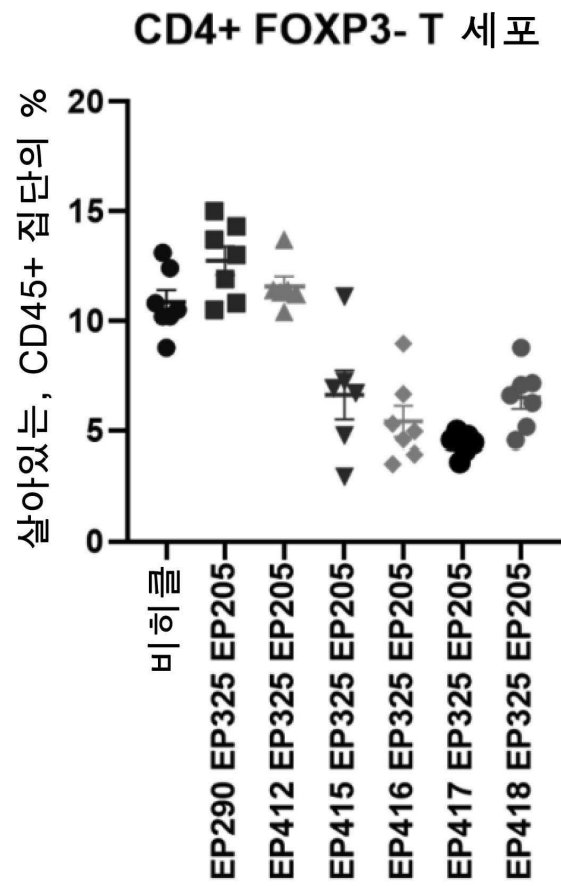
도면25c



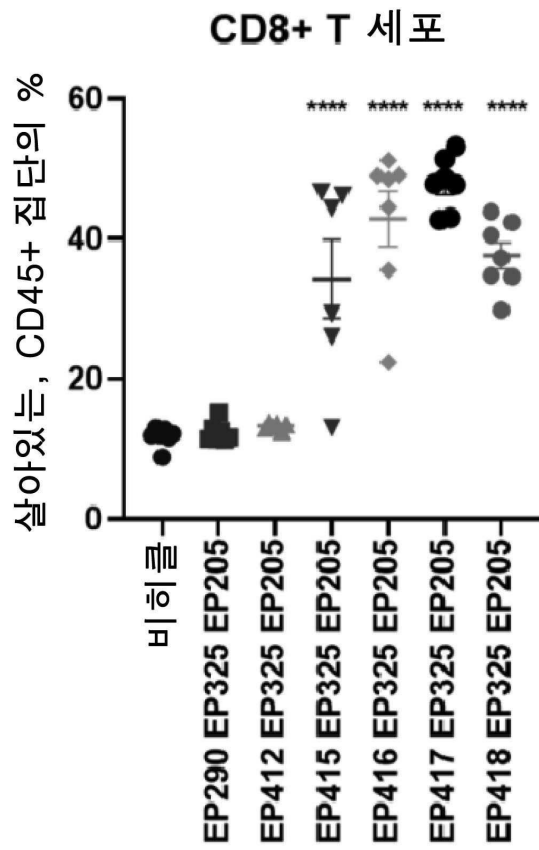
도면25d



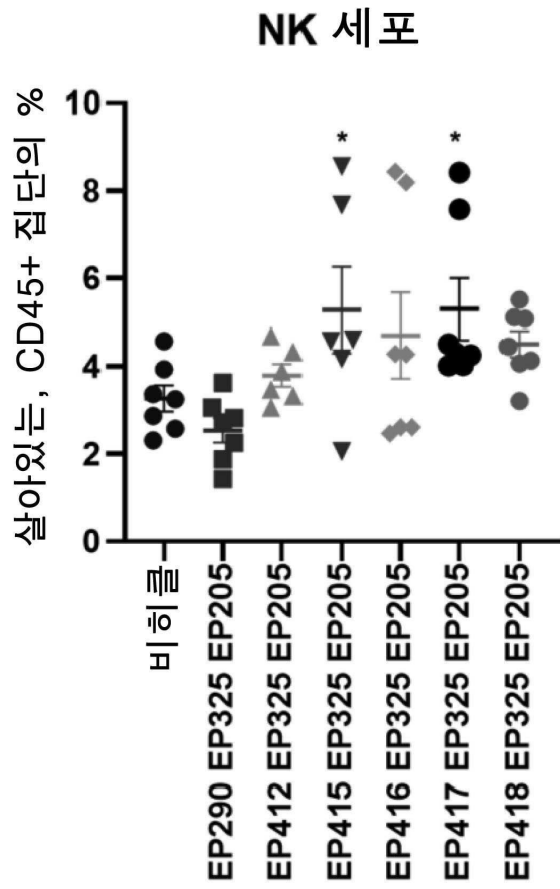
도면26a



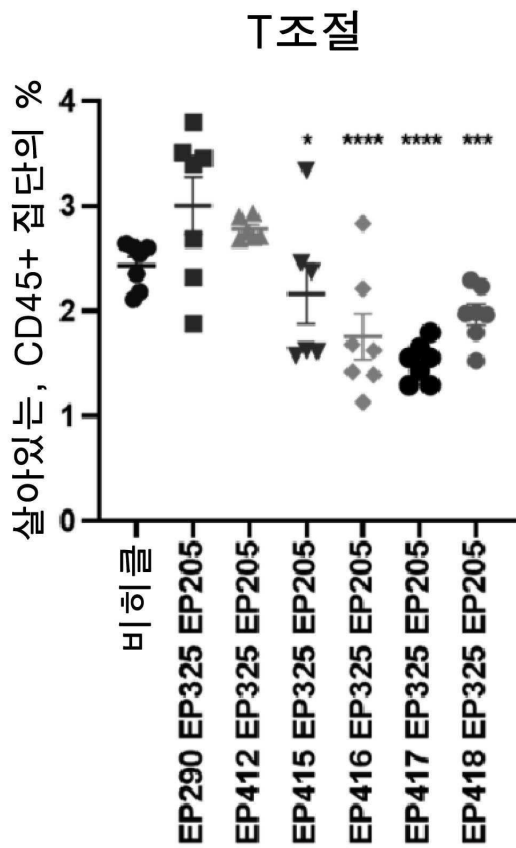
도면26b



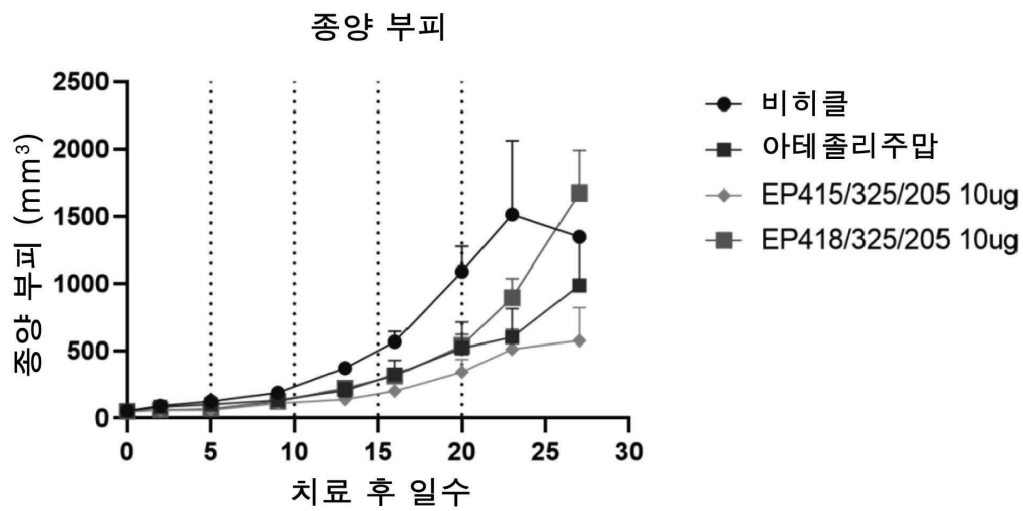
도면26c



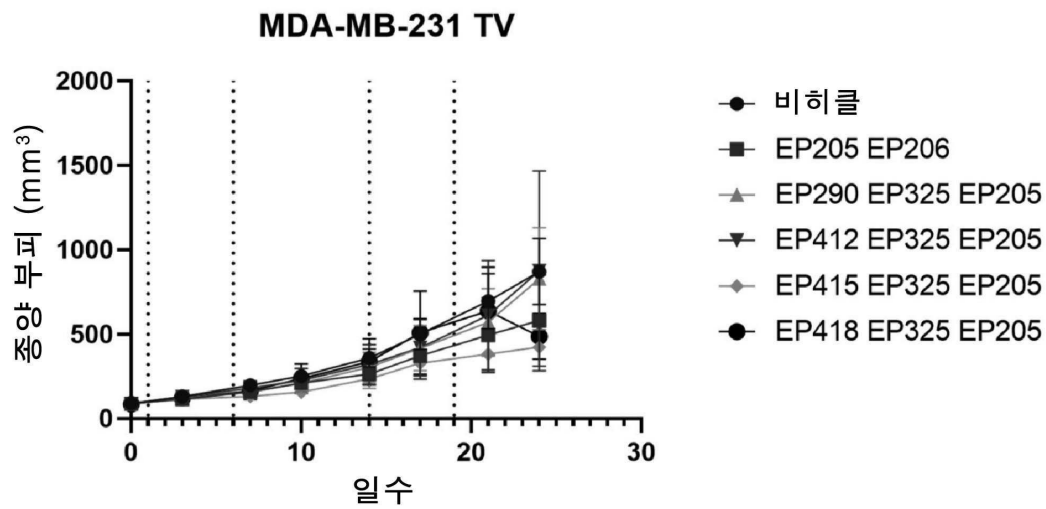
도면26d



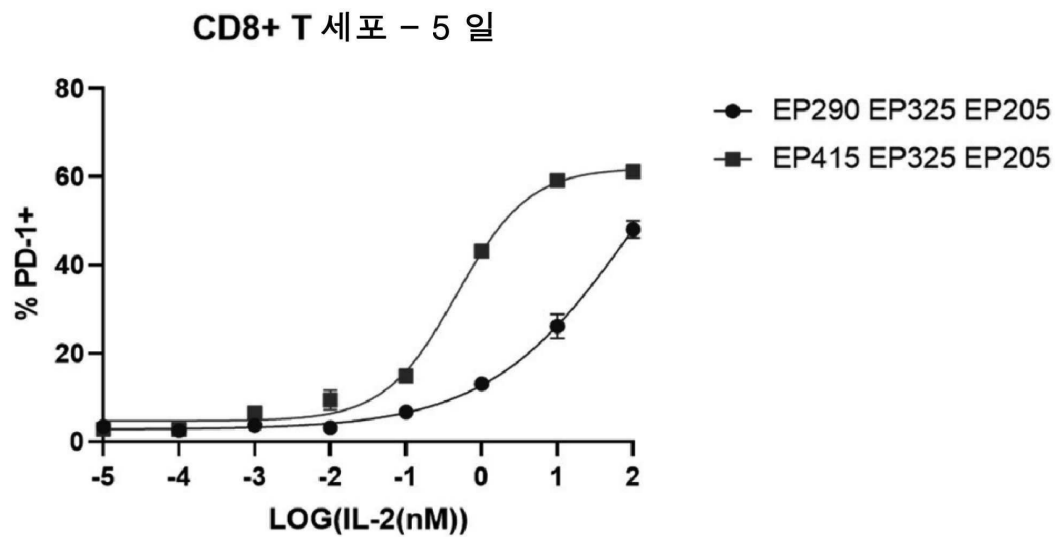
도면27



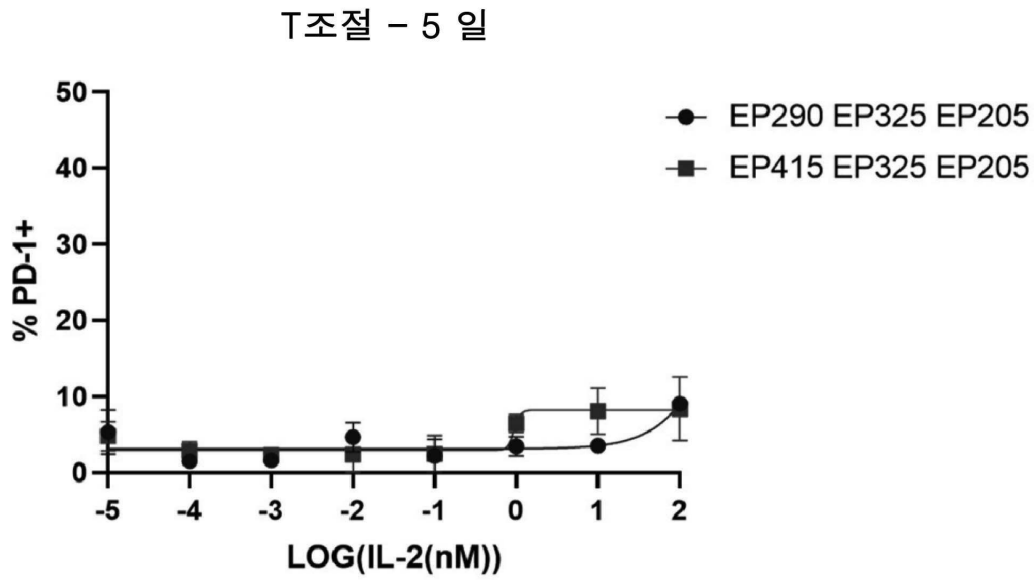
도면28



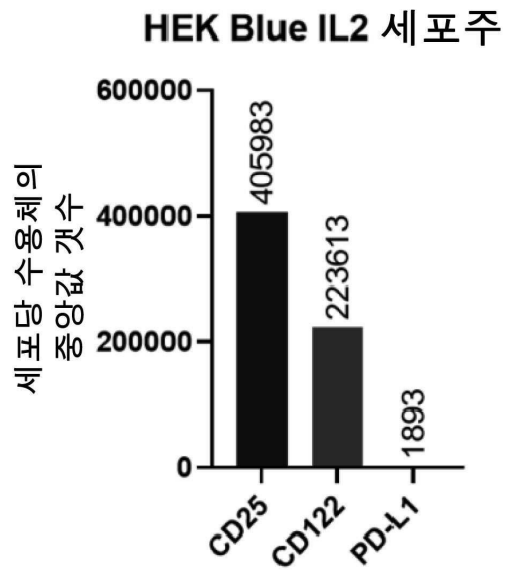
도면29a



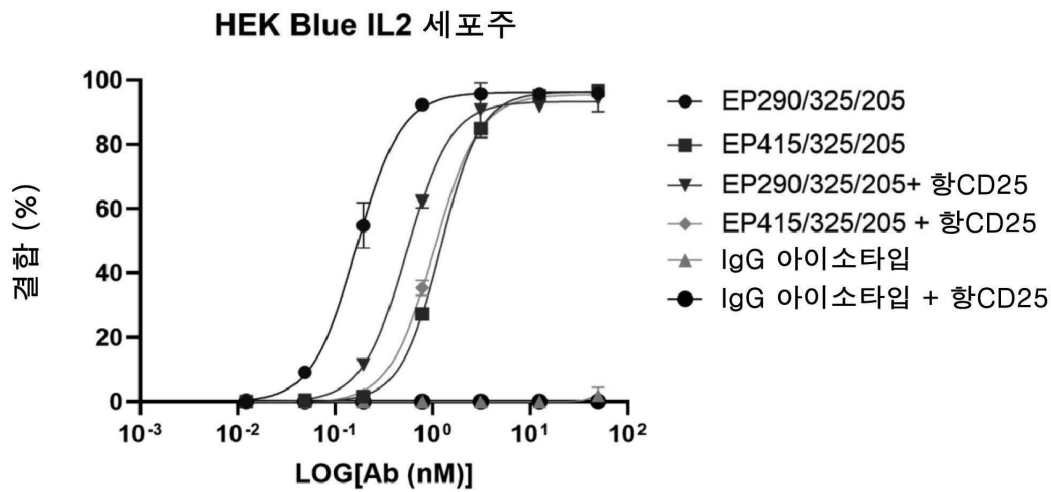
도면29b



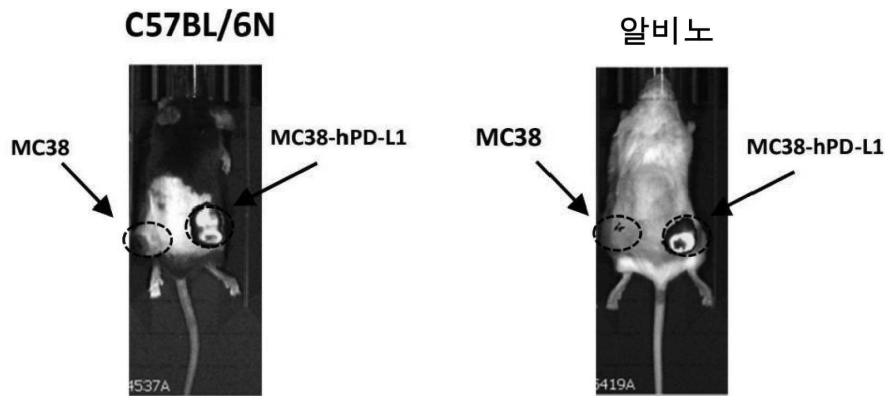
도면30a



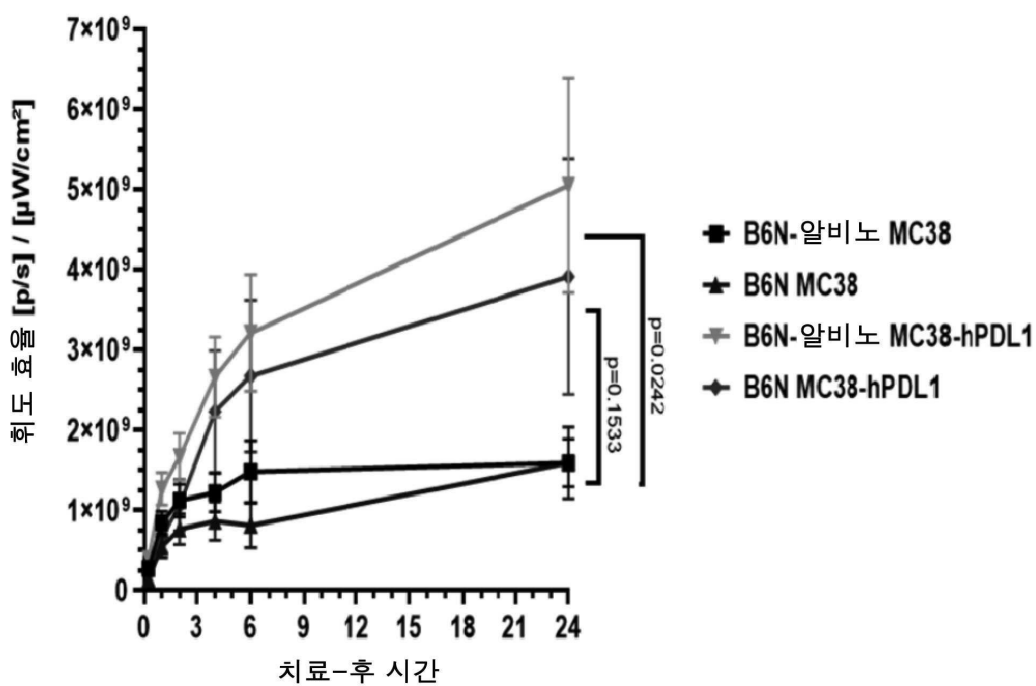
도면30b



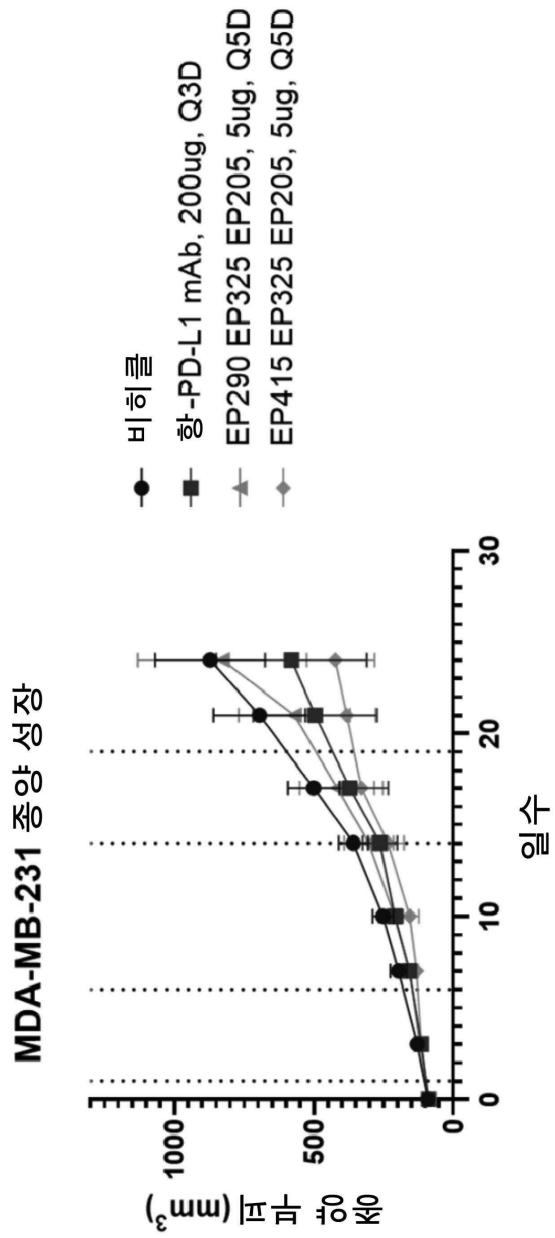
도면31a



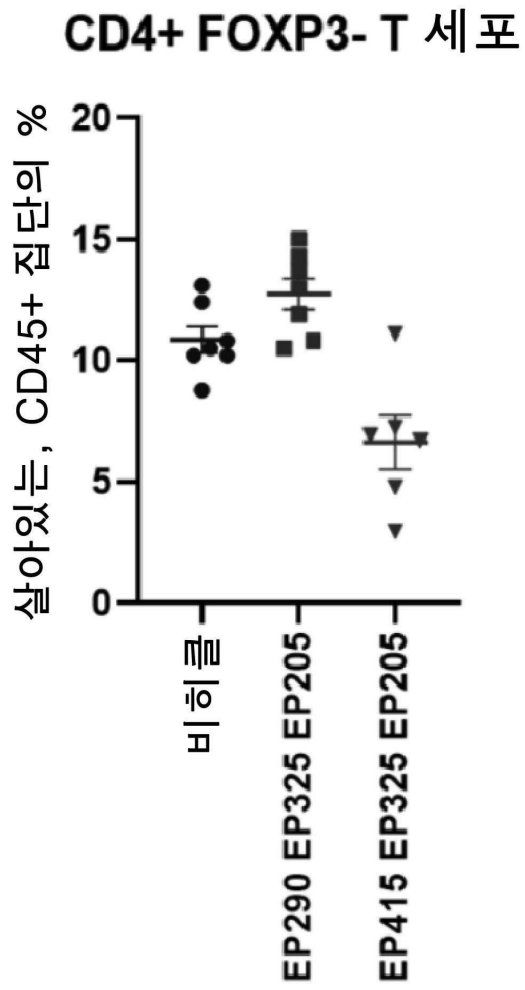
도면31b



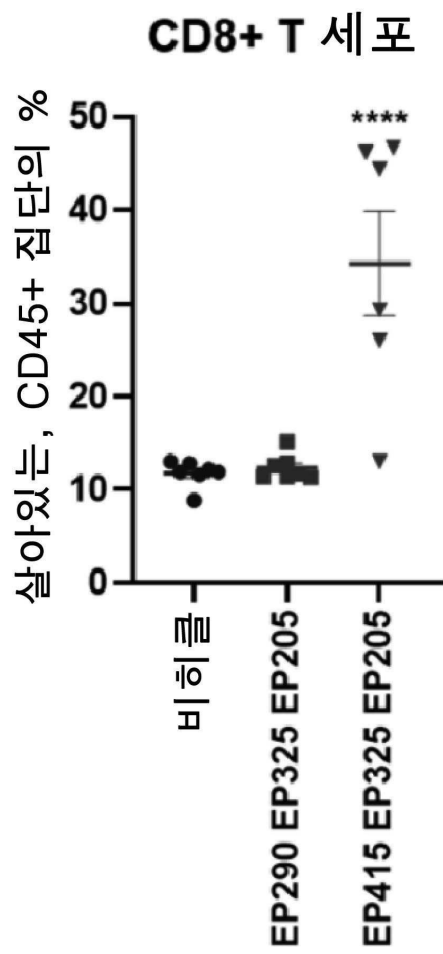
도면32a



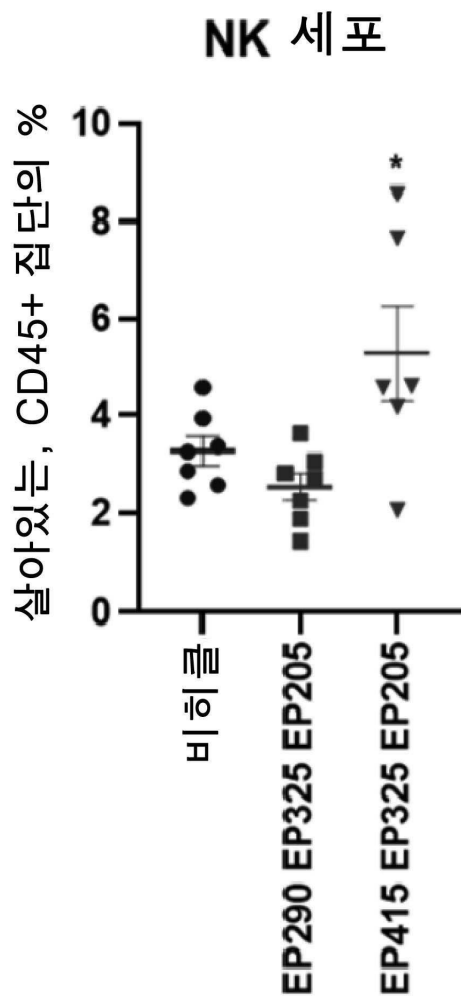
도면32b



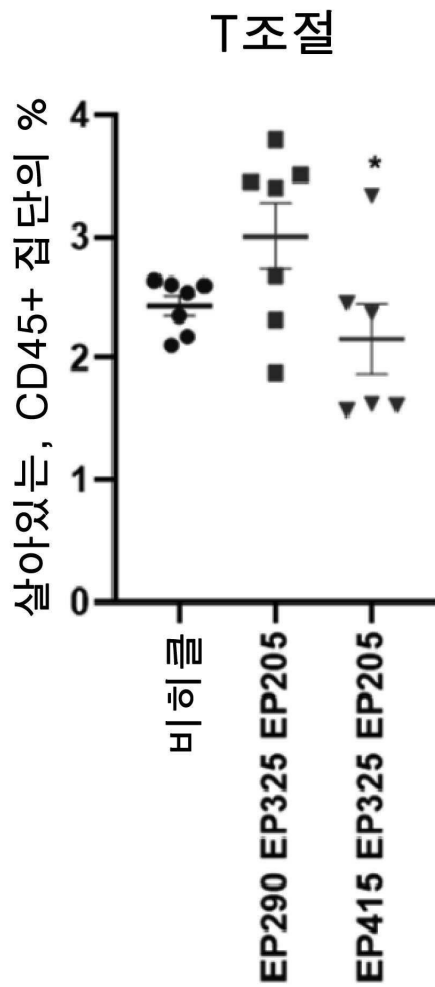
도면32c



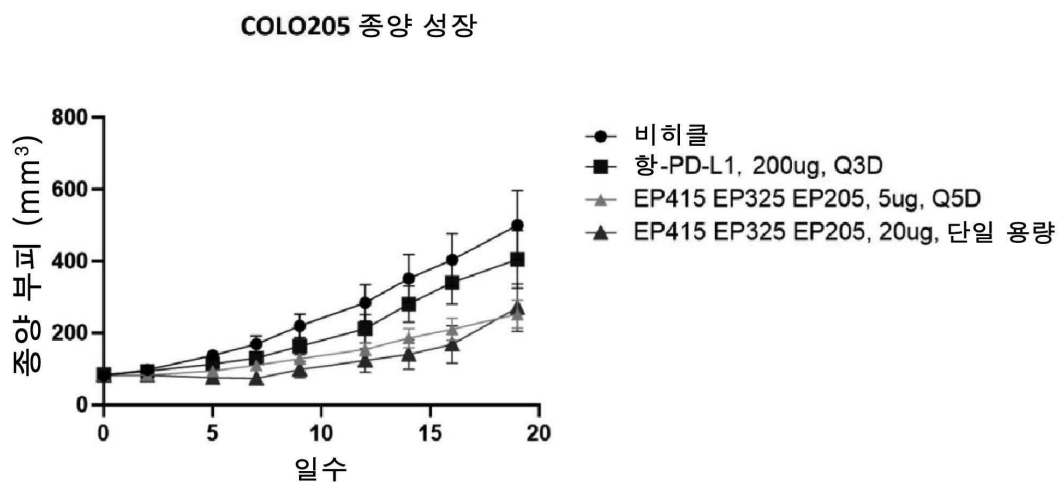
도면32d



도면32e

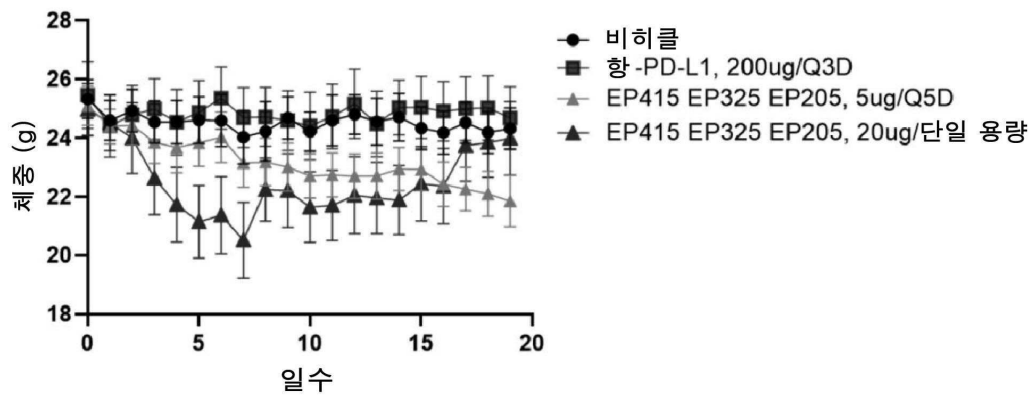


도면33a



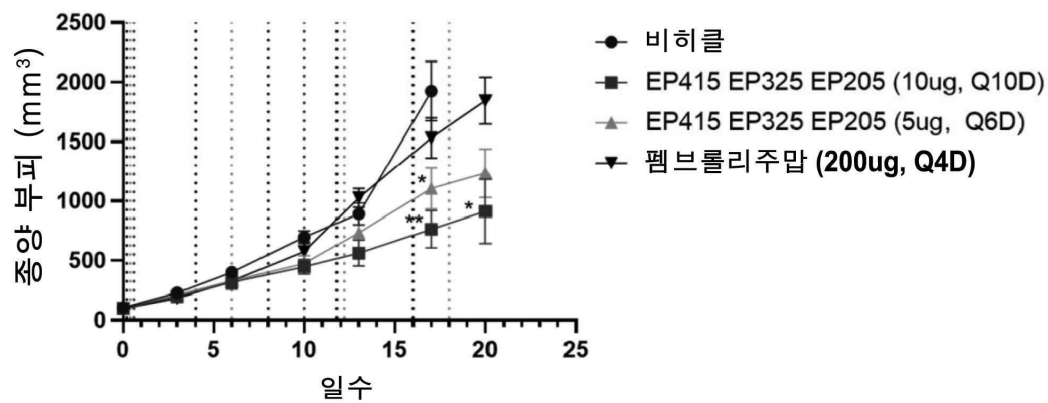
도면33b

COLO205 마우스 체중



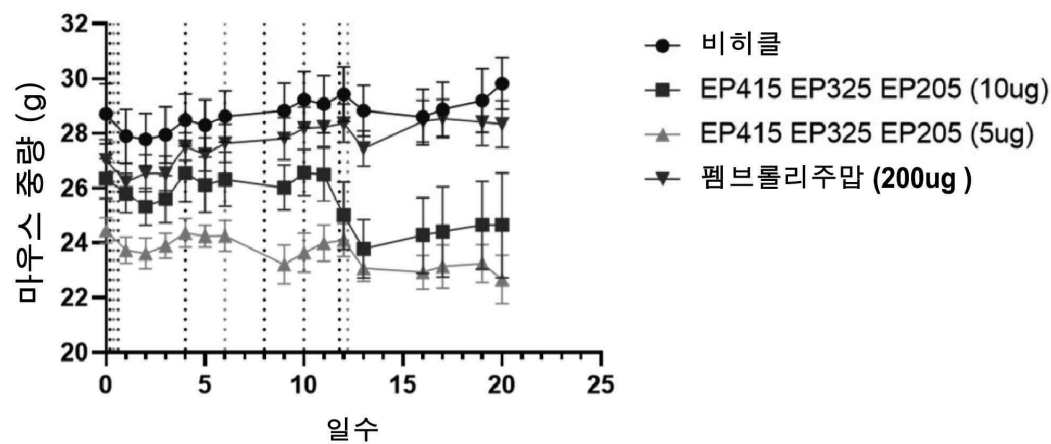
도면34a

종양 부피

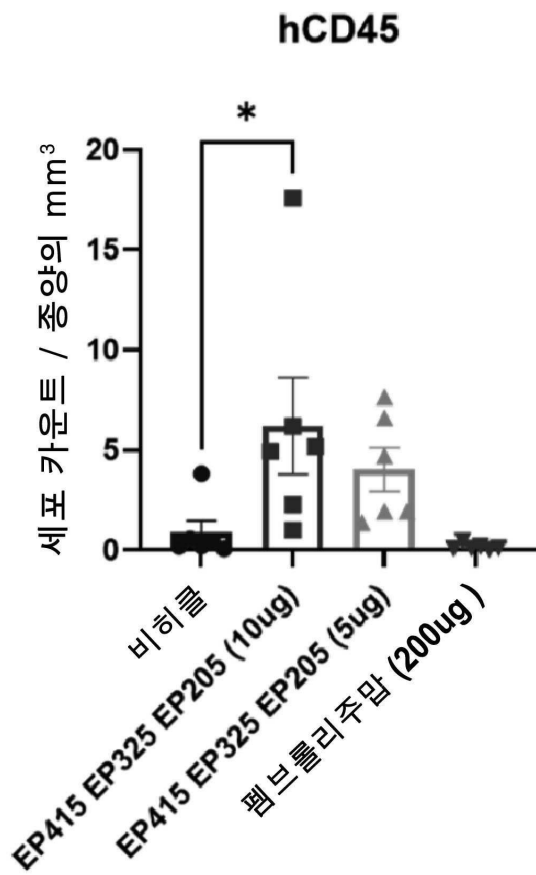


도면34b

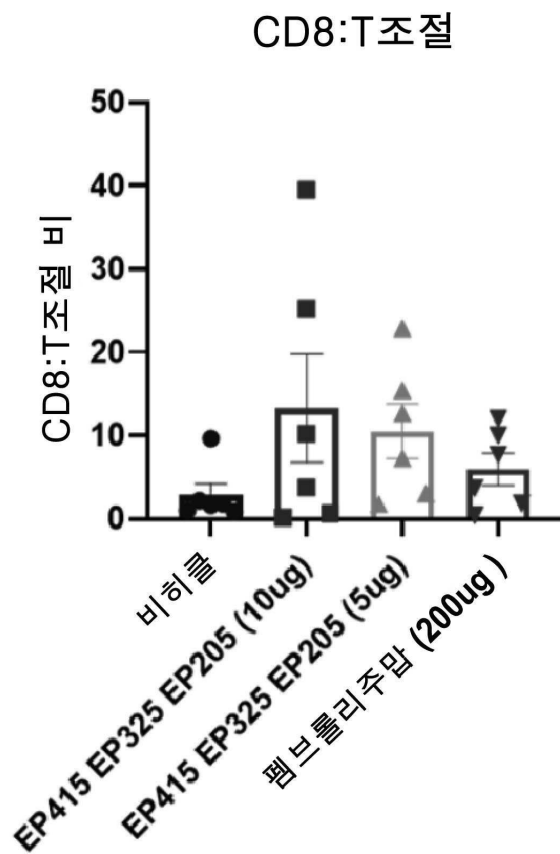
체중



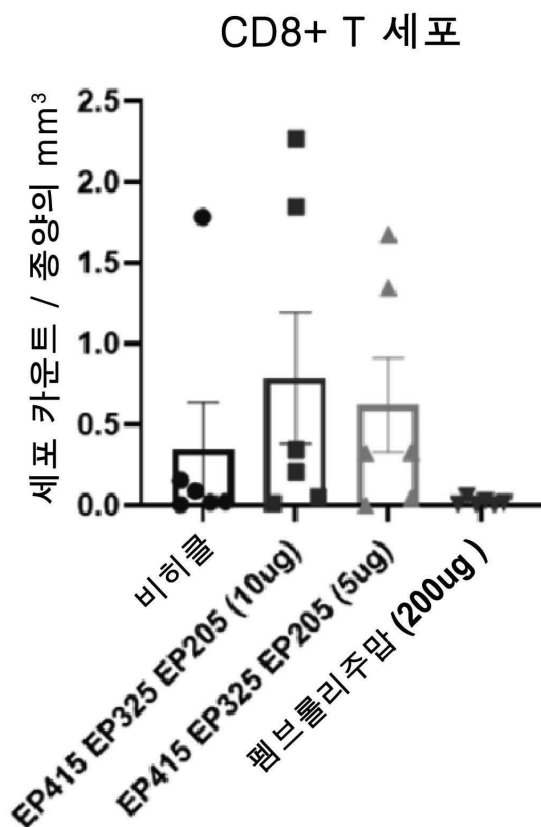
도면34c



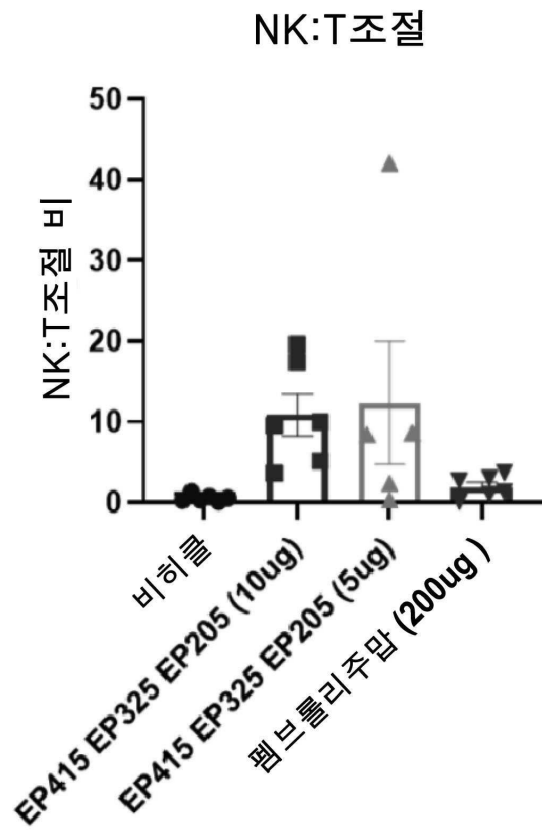
도면34d



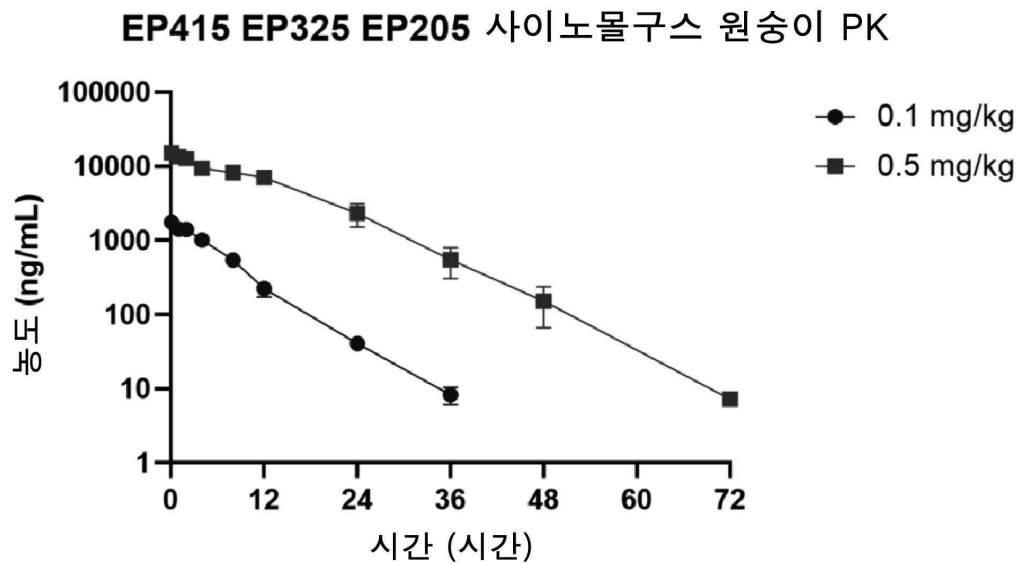
도면34e



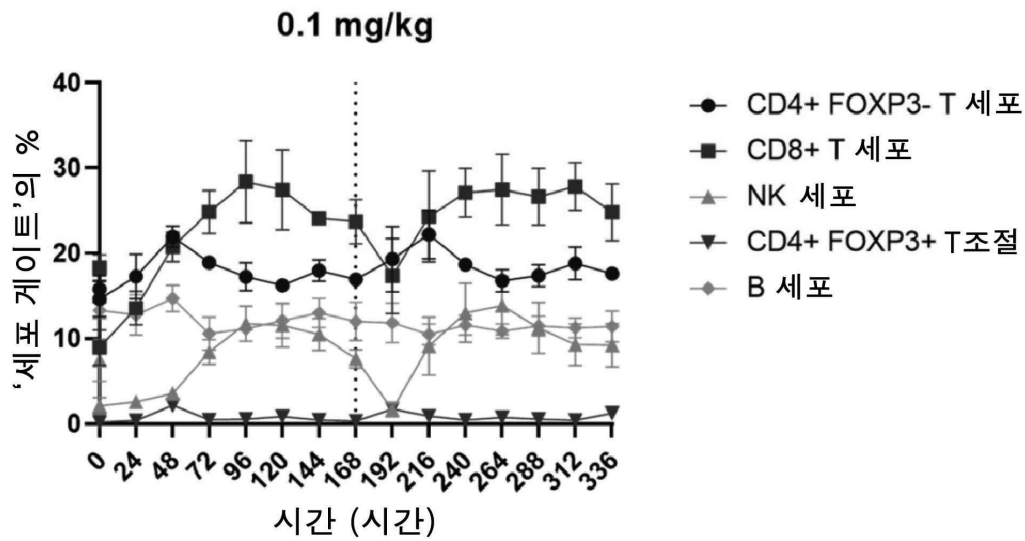
도면34f



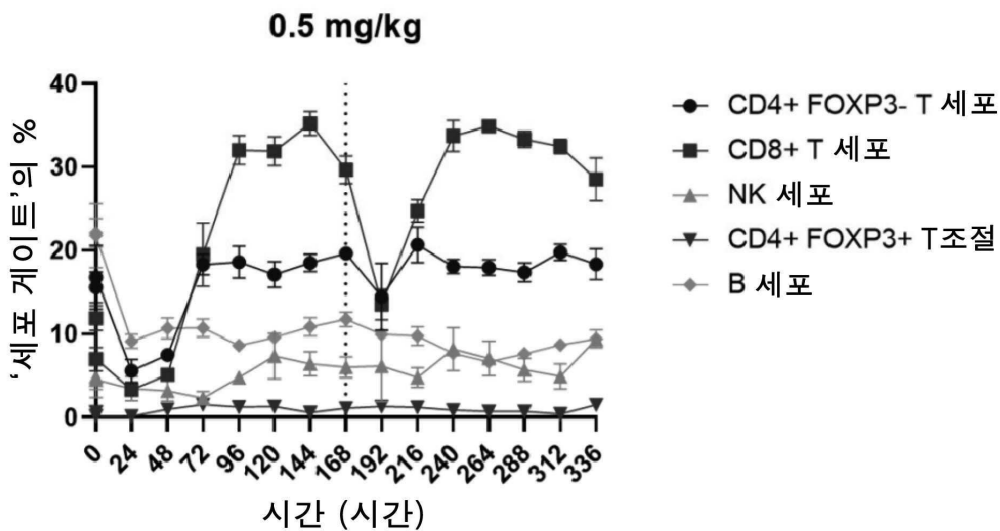
도면35a



도면35b



도면35c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Elpis Biopharmaceuticals

<120> ANTI-PD-L1 MONOCLONAL ANTIBODIES AND FUSION
PROTEINS

<130> 300096.402W0

<140> PCT

<141> 2022-01-21

<150> US 63/140,749

<151> 2021-01-22

<160> 192

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<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 Asn 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 Gly Arg Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Ala Ala Tyr Asn Trp Phe

100 105 110

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 2

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 2

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

1 5 10 15

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

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

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 3

Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 4

Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr

1 5 10

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 5

Arg Gly Arg Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Ala Ala Tyr Asn Trp Phe

1 5 10 15

Asp Pro

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 6

Ser Leu Arg Ser His Tyr Ala Ser

1 5

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 7

Val Val Val Val Tyr Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 8

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr

1 5 10

<210> 9

<211> 122

<212>

PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 9

Glu 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 Asp Ser Arg Trp Gly Pro Ala Pro His Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 10

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 10

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

1 5 10 15

Gln Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><

223> Synthetic sequence

<400> 11

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 12

Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr

1 5 10

<210> 13

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 13

Arg Asp Ser Arg Trp Gly Pro Ala Pro His Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 14

Ser Ser Asp Ile Gly Ser Tyr Asn Leu Val Ser

1 5 10

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 15

Leu Ile Leu Tyr Glu Ile Thr Lys Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 16

Cys Ser Tyr Ala Gly Leu Ser Val Phe Phe

1 5 10

<210> 17

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 17

Glu Val Gln Leu Val 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 Ala Ser Gly Trp Tyr Pro Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 18

Val Ile Trp Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Tyr
 20 25 30

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

Phe Asn Ala Ser Thr 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 Thr Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Val Pro Leu
 85 90 95

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

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 19

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 20

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 20

Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210>

21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 21

Lys Ala Ser Gly Trp Tyr Pro Trp Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 22

Gln Ser Val Ser Thr Tyr Ile Asn

1 5

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 23

Leu Leu Ile Phe Asn Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5 10

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 24

Gln Gln Ser Tyr Arg Val Pro Leu

1 5

<210> 25

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 25

Gln Val Gln Leu Val 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 Ala Gly Ser Trp Tyr Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 26

Asp Ile Val 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 Ala Ser Gln Thr Val Ser Thr Tyr

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Pro Leu

85

90

95

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg

100

105

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 27

Lys Ala Gly Ser Trp Tyr Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

Synthetic sequence

<400> 28

Gln Thr Val Ser Thr Tyr Ile Asn

1 5

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 29

Leu Leu Ile Phe Asp Ala Ser Arg Leu Gln Ser

1 5 10

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 30

Gln Gln Ser Tyr Arg Ile Pro Leu Ser

1 5

<210> 31

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 31

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Thr Asp Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Leu Thr Leu Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 32

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 32

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala

1

5

10

15

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Pro Ser Gly Ile Asn Val Gly Pro

20

25

30

Tyr Gly Ile Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr

35

40

45

Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asn Ser Glu Asn His Gln Gly Ser Gly Val

50

55

60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Glu Asp Ala Ser Ala Asn Val Gly Ile

65

70

75

80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

85

90

95

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val

100

105

110

Thr Val Leu

115

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 33

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 34

Trp Met Gly Leu Val Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala

1 5 10 15

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 35

Thr Asp Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Leu Thr Leu

1 5 10

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 36

Ser Gly Ile Asn Val Gly Pro Tyr Gly Ile

1 5 10

<210> 37

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 37

Gln Tyr Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asn Ser Glu Asn His Gln Gly Ser

1 5 10 15

<210> 38

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 38

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Trp Val

1 5

<210> 39

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<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 Asn His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Asn 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 Gly Arg Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Ala Ala Tyr Asn Trp Phe

100 105 110

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 40

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 40

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

1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser His Tyr Ala

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105

<210> 41

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 41

Trp Ile Gly Glu Ile Asn His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr

1 5 10

<210> 42

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 42

Val Val Val Tyr Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 43

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 43

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Tyr Val

1 5 10

<210> 44

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 44

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 Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 45

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 45

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

1

5

10

15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20

25

30

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

35

40

45

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65

70

75

80

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

85

90

95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

110

<210> 46

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 46

Arg Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 47

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 47

Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Asn

1 5 10

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 48

Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 49

Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro

1 5 10

<210> 50

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 50

Gln Val Gln Leu Val Gln 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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Ser Leu Gln Trp Leu Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 51

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 51

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

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

85 90 95
Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 52

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 53

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 53

Trp Val Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr

1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 54

Arg Asp Ser Leu Gln Trp Leu Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 55

Asn Ile Gly Arg Lys Ser Val His

1 5

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 56

Leu Val Ile Gly His Asp Thr Asp Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 57

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 57

Gln Val Trp Asp Thr Ser Gly His His Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 58

Gln Met 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	Asp	Lys	Gly	Tyr	Gly	Ser	Gly	Trp	Arg	Gly	Asp	Tyr	Trp	Gly
100					105					110					

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 59

 $\langle 211 \rangle$ 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 59

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ile His Phe Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 60

Leu Leu Ile His Phe Asp Asn Gln Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 61

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 61

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 Leu Thr Phe Ser Asn Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Pro Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Thr Ile Val Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Pro Val Phe Phe

100 105 110

Gln His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 62

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 62

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asp Ser Asn Ile Ala Thr Asn

 20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

 35 40 45

Ile Tyr Arg Asn His Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Val

 85 90 95

Asn Ser Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

 100 105 110

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 63

Leu Thr Phe Ser Asn Ala Trp Met Ser

1 5

<210> 64

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 64

Trp Val Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Glu Tyr

1 5 10 15

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 65

Ile Val Tyr Tyr Tyr Asp Ser Ser Gly Pro Val Phe Phe Gln His

1 5 10 15

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 66

Asp Ser Asn Ile Ala Thr Asn Tyr Val Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 67

Leu Leu Ile Tyr Arg Asn His Gln Arg Pro Ser

1 5 10

<210> 68

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 68

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Val Asn Ser Trp

1 5 10

<210> 69

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

><223> Synthetic sequence

<400> 69

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 Asn Lys Gly Tyr Val Ser Gly Trp Arg Ser Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 70

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 70

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

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

<210> 71

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 71

Arg Asn Lys Gly Tyr Val Ser Gly Trp Arg Ser Asp Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 72

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 Asp Lys Gly Phe Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 73

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 73

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
 65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 74

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 74

Arg Asp Lys Gly Phe Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr
 1 5 10

<210> 75

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 75

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 Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Phe Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 76

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 76

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45
Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

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

<210> 77

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 77

Arg Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Phe Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 78

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 78

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	Asp	Lys	Trp	Tyr	Gly	Ser	Gly	Trp	Arg	Gly	Asp	Tyr	Trp	Gly
			100					105					110		
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
			115				120								

<210> 79

 $\langle 211 \rangle$ 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 79

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

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

85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 80

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 80

Arg Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 81

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 81

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 Ile Arg Ile Gly Thr Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 82

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

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

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

100 105

<210> 83

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220>

<223> Synthetic sequence

<400> 83

Arg Arg Ile Arg Ile Gly Thr Gly Trp Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 84

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 84

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 Asp Lys Trp Phe Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 85

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 85

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

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

85 90 95
 Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 86

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 86

Arg Asp Lys Trp Phe Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 87

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 87

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 88

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 88

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 89

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 89

Arg Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr

1 5 10

<210> 90

<211> 227

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

210 215 220
Pro Gly Lys

225

<210> 91

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 92

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 92

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

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

20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile

100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

130 135 140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val

180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 93
 <211> 162
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 93
 Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr
 1 5 10 15
 Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His
 20 25 30

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

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

 Thr Ser

<210> 94

<211> 267

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala

1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr

20 25 30

Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser

35 40 45

Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys

50 55 60

Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala

65 70 75 80

Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp

85 90 95

Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val Thr Thr

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr Thr Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr Pro Ser

165 170 175

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

180 185 190

Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr Val Ala Ile

195 200 205

Ser Thr Ser Thr Val Leu Leu Cys Gly Leu Ser Ala Val Ser Leu Leu

210 215 220
Ala Cys Tyr Leu Lys Ser Arg Gln Thr Pro Pro Leu Ala Ser Val Glu
225 230 235 240
Met Glu Ala Met Glu Ala Leu Pro Val Thr Trp Gly Thr Ser Ser Arg

245 250 255
Asp Glu Asp Leu Glu Asn Cys Ser His His Leu

260 265
<210> 95
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<220><221> misc_feature
<222> 1
<223> Xaa = C T G W I S E and K
<220><221> misc_feature
<222> 2
<223> Xaa = Y P V W L A and G
<220><221> misc_feature
<222> 3
<223> Xaa = S T Q G M E R and K
<220><221> misc_feature

<222> 5
<223> Xaa = A V S and T
<220><221> misc_feature
<222> 6
<223> Xaa = I L T and V
<220><221> misc_feature
<222> 7
<223> Xaa = S T E D and R
<220><221> misc_feature
<222> 9
<223> Xaa = I A M and V

<220><221> misc_feature

<222> 10

<223> Xaa = S T N Q I G E K and R

<220><221> misc_feature

<222> 11

<223> Xaa = V L and I

<220><221> misc_feature

<222> 12

<223> Xaa = N T I and L

<220><221> misc_feature

<222> 13

<223> Xaa = V A and I

<220><221> misc_feature

<222> 14

<223> Xaa = Q L G K and R

<220><221> misc_feature

<222> 15

<223> Xaa = A D and E

<400> 95

Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5 10 15

<210> 96

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 96

Gly Val Thr Asp Ser Ile Ser Asn Ala Ile Val Leu Ala Arg Glu

1 5 10 15

<210>

> 97

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 97

Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Glu

1 5 10 15

<210> 98

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 98

Lys Trp Gly Asp Ala Val Ser Asn Ala Arg Val Leu Ala Gly Ala

1 5 10 15

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 99

Thr Leu Met Asp Thr Thr Asp Asn Ile Gly Val Leu Val Arg Glu

1 5 10 15

<210> 100

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 100

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

1 5 10 15

<210> 101

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400>

101

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

1 5 10 15

<210> 102

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 102

Trp Ala Ser Asp Ser Ile Glu Asn Ile Thr Leu Leu Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 103

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 103

Cys Pro Thr Asp Thr Ile Glu Asn Ile Thr Val Leu Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 104

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

1 5 10 15

<210> 105

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 105

Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 106

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 106

Thr Pro Arg Asp Val Val Glu Asn Met Asn Val Leu Val Leu Glu

1 5 10 15

<210> 107

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 107

Thr Pro Ser Asp Val Ile Glu Asn Met Glu Val Leu Ile Leu Asp

1 5 10 15

<210> 108

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 108

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

1 5 10 15

<210> 109

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 109

Thr Pro Ser Asp Val Ile Glu Asn Ile Thr Val Leu Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 110

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223

> Synthetic sequence

<400> 110

Gly Val Gly Asp Thr Ile Asp Asn Ile Asn Val Leu Val Lys Glu

1 5 10 15

<210> 111

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 111

Ile Gly Arg Asp Ser Ile Asp Asn Ile Lys Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 112

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 112

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

1 5 10 15

<210> 113

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 113

Thr Ala Glu Asp Val Val Thr Asn Ile Thr Val Leu Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 114

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 114

Thr Ala Glu Asp Val Ile Ser Asn Ile Arg Val Asn Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 115

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 115

Thr Pro Ser Asp Val Ile Asp Asn Val Ser Ile Thr Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 116

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 116

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 117

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 117

Arg Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 118

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 118

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 119

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 119

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 120

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Ile Leu Glu

1 5 10 15

<210> 121

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223>

> Synthetic sequence

<400> 121

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu

1 5 10 15

<210> 122

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 122

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Asn Val Ile Val Gln Glu

1 5 10 15

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 123

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

1 5 10 15

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 124

Pro Val Leu Thr Arg Met Leu Thr Ile Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 125

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 125

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Leu Lys Phe Pro

1 5 10

<210> 126

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 126

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

1 5 10

<210> 127

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 127

Pro Gly Leu Thr Glu Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 128

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 128

Pro Ser Leu Thr Arg Met Leu Thr Gly Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 129

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 129

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

1 5 10

<210> 130

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 130

Pro Cys Leu Thr Ala Met Leu Thr Leu Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 131

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 131

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr His Lys Phe Val

1 5 10

<210> 132

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 132

Pro Cys Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 133

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 133

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

1 5 10

<210> 134

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 134

Pro Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr

1 5 10

<210> 135

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 135

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

1 5 10

<210> 136

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 136

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

1 5 10

<210> 137

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 137

Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Cys

1 5 10

<210> 138

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 138

Pro Lys Leu Thr Ser Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 139

Pro Lys Leu Thr Tyr Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 140

Pro Lys Leu Thr Gly Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 141

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Thr

1 5 10

<210> 142

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 142

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

1 5 10

<210> 143

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 143

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Pro

1 5 10

<210> 144

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 144

Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr Phe Lys Phe Phe

1 5 10

<210> 145

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 145

Pro Lys Leu Thr Cys Met Leu Thr Phe Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 146

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 146

Pro Lys Leu Thr Asn Met Leu Thr Phe Lys Phe Ala

1 5 10

<210> 147

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 147

Pro Lys Leu Thr Asn Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser

1 5 10

<210> 148

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 148

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190

 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 149
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 149

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 150

<211> 455

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 150

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 Asn 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 Gly Arg Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Ala Ala Tyr Asn Trp Phe
100 105 110

Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

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

 195 200 205
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 225 230 235 240
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 245 250 255
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

 260 265 270
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 275 280 285
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 290 295 300
 Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 305 310 315 320
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

 325 330 335
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 340 345 350
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 355 360 365
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 151

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 151

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

1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser His Tyr Ala

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

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

 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 152
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence
 <400> 152
 Glu Val Gln Leu Val 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 Ala Ser Gly Trp Tyr Pro Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile		
245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 153
<211> 213
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence

<400> 153

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

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

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

Phe Asn Ala Ser Thr 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 Thr Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Arg Val Pro Leu
85 90 95

Ser Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 154

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 154

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

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

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

 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350

 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 155
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence
 <400> 155
 Asp Ile Val 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 Ala Ser Gln Thr Val Ser Thr Tyr
 20 25 30
 Ile Asn Trp Tyr Gln Gln Arg Ser Gly Lys Gly Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Phe Asp Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Thr Ser Leu Gln Pro

65						70						75						80		
Asp	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser	Tyr	Arg	Ile	Pro	Leu					
				85							90							95		
Ser	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro					
				100							105							110		
Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr					
				115							120							125		
Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys					
				130							135							140		
Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu					
145								150							155					160
Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser					
				165							170							175		
Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala					
				180							185							190		
Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe					
				195							200							205		
Asn Arg Gly Glu Cys																				
210																				
<210> 156																				
<211> 455																				
<212> PRT																				
<213> Artificial sequence																				
<220><223> Synthetic sequence																				
<400> 156																				
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 Asn His Ile Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Asn 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 Gly Arg Arg Leu Arg Tyr Phe Asp Trp Ala Ala Tyr Asn Trp Phe
 100 105 110

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

 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 195 200 205
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 225 230 235 240

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

290 295 300

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
325 330 335

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 157

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 157

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

Thr Val Arg Ile Ser Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser His Tyr Ala
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Val Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Val Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 158

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 158

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 Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 245 250 255

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

260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 159

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 159

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

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

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

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

 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 160
 <211> 399
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence

<400> 160

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly

145 150 155 160

Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu

165 170 175

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala

195 200 205

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe

210 215 220

Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly

225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser
260 265 270
Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln
275 280 285
Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg
290 295 300
Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys
305 310 315 320
His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu
325 330 335
Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile
340 345 350
Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr
355 360 365
Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu
370 375 380
Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
385 390 395
<210> 161
<211> 399
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 161
Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
 85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

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

 Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln
 180 185 190
 Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe
 195 200 205
 Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr
 210 215 220
 Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
 225 230 235 240

 Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Lys Trp Tyr Gly
 245 250 255
 Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 260 265 270
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 275 280 285

Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly
290 295 300

Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser
305 310 315 320

Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
325 330 335

Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
340 345 350

Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
355 360 365

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser
370 375 380

Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
385 390 395

<210> 162

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 162

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

Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Val

340 345 350
Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr

355 360 365
Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu

370 375 380
Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

385 390 395

<210> 163

<211> 399

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 163

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

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

 Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe
 195 200 205
 Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr
 210 215 220
 Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
 225 230 235 240
 Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Lys Trp Tyr Gly
 245 250 255

 Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 260 265 270
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 275 280 285
 Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly
 290 295 300
 Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser
 305 310 315 320

 Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 325 330 335
 Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 340 345 350
 Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
 355 360 365
 Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser
 370 375 380

Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

385 390 395

<210> 164

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 164

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly

145 150 155 160

Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu

165 170 175

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro

180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala
195 200 205

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe
210 215 220

Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr Ser Ser Ser
260 265 270

Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln
275 280 285

Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Leu Leu Thr Asp
290 295 300

Met Leu Thr Arg Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
305 310 315 320

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
325 330 335

Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
340 345 350

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
355 360 365

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
370 375 380

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
385 390 395 400

<210> 165
<211> 360
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 165

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

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

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

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

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
130 135 140

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
145 150 155 160

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
165 170 175

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
180 185 190

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
195 200 205

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
210 215 220

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
225 230 235 240

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

245 250 255
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
260 265 270

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
275 280 285

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
290 295 300

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
305 310 315 320

Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
325 330 335

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
340 345 350

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 166

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 166

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

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

20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys

35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys

50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu

65 70 75 80

Gly Val Thr Asp Ser Ile Ser Asn Ala Ile Val Leu Ala Arg Glu Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr

260 265 270

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

340 345 350
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355 360

<210> 167

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 167

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 168

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 168

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Arg Lys Phe Tyr Met Pro Lys
35 40 45
Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
50 55 60
Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
65 70 75 80
Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
85 90 95
Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
100 105 110
Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile
115 120 125
Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
130 135 140
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
145 150 155 160
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
165 170 175
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
180 185 190
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
195 200 205
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
210 215 220
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
225 230 235 240
Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

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

 290 295 300
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 305 310 315 320
 Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 325 330 335
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 340 345 350
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 355 360

<210> 169

<211> 360

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 169

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 20 25 30
 Asn Pro Leu Leu Thr Asp Met Leu Thr Arg Lys Phe Tyr Met Pro Lys
 35 40 45

 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
 50 55 60
 Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
 65 70 75 80
 Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu

85 90 95
 Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
 100 105 110

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

 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 180 185 190
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 195 200 205
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 210 215 220
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 225 230 235 240

 Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 245 250 255
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr
 260 265 270
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 275 280 285
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 290 295 300

 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 305 310 315 320
 Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 325 330 335

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
340 345 350

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360

<210> 170
<211> 360
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence
<400> 170

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
130 135 140
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
145 150 155 160
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
165 170 175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

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

245

250

255

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr

260

265

270

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

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

340

345

350

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

355

360

<210> 171

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 171

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

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

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

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

 195 200 205
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 210 215 220
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 225 230 235 240
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

<210> 172

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 172

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ala Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Ile Gln Glu Leu

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

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

340 345 350

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

355 360 365

<210> 173

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Pro Arg Asp Ala Ile Asp Asn Ile Arg Val Ile Val Gln Glu Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
180 185 190

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
195 200 205

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
210 215 220

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
225 230 235 240

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
275 280 285

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

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
305 310 315 320

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
325 330 335

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
340 345 350

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 174
<211> 365
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 174

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

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

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

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

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

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

260 265 270
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
275 280 285

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355 360 365

<210> 175

<211> 365

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 175

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
1 5 10 15
Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
20 25 30
Asn Pro Lys Leu Thr Asp Met Leu Thr Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys

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

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

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ser Thr Leu Thr Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys

260 265 270

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

				340				345				350				
His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys				
				355				360				365				
<210>	176															
<211>	473															
<212>	PRT															
<213>	Artificial sequence															
<220><223>	Synthetic sequence															
<400>	176															
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	Asp	Lys	Trp	Tyr	Gly	Ser	Ala	Trp	Arg	Gly	Asp	Tyr	Trp	Gly	
				100				105				110				
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	
				115				120				125				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	
				130				135				140				
Ser	Ala	Ser	Gly	Thr	Pro	Gly	Gln	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Ser	Gly	
145					150				155				160			
Ser	Tyr	Ser	Asn	Ile	Gly	Ser	Asn	Phe	Val	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	
				165				170				175				

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro
180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala
195 200 205

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe
210 215 220

Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
245 250 255

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
260 265 270

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
340 345 350

Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
355 360 365

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
370 375 380

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
385 390 395 400

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

465 470

<210> 177

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 177

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 178
 <211> 451

 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence
 <400> 178
 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 Asp Lys Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser

 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

 245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

 305 310 315 320
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 179
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence
 <400> 179
 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 Asp Lys Gly Phe Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 180

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 180

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Gly Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

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

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

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

 340 345 350
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 181

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 181

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 182
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> Synthetic sequence
<400> 182
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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly		
100	105	110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
115	120	125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala		
130	135	140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val		
145	150	155
		160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala		
165	170	175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val		
180	185	190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His		
195	200	205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys		
210	215	220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly		
225	230	235
		240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
245	250	255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
260	265	270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
275	280	285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
290	295	300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
305	310	315
		320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile		
325	330	335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Ala Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 183

<211> 604

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 183

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

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys
465 470 475 480

Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu
485 490 495

Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr
500 505 510

Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln
515 520 525

Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala
530 535 540

Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile
545 550 555 560

Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys

565 570 575
 Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp
 580 585 590

Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 595 600

<210> 184

<211> 604

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 184

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445
Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys

465 470 475 480
Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu

485 490 495
Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr

500 505 510
Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln

515 520 525
Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala

530 535 540
Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Thr Ala Arg Asp Ala Val Asp Asn Met

545 550 555 560
Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys

565 570 575
Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp

580 585 590
Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr

595 600

<210> 185

<211> 604

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 185

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

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

 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

245 250 255
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 260 265 270
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 275 280 285
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 290 295 300
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 305 310 315 320

 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380

 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445

 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys
 465 470 475 480
 Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu
 485 490 495

Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Val Met Leu Thr
500 505 510

Phe Lys Phe Ser Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln
515 520 525

Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Leu Ala
530 535 540

Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Thr Pro Arg Asp Ala Ile Ser Asn Ile
545 550 555 560

Arg Val Ile Ile Gln Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys
565 570 575

Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp
580 585 590

Ile Thr Phe Ser Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595 600

<210> 186

<211> 584

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 186

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

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

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

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

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

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys

465 470 475 480

Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr

485 490 495

Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys

500 505 510

Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser

515 520 525

Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu

530 535 540

Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu

545 550 555 560

Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile

565 570 575

Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

580

<210> 187

<211> 538

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 187

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

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

435 440 445
 Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val
 465 470 475 480
 Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu
 485 490 495
 Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser
 500 505 510

 Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr
 515 520 525
 Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro
 530 535
 <210> 188
 <211> 606
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Synthetic sequence
 <400> 188
 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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro
130 135 140

Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly

145 150 155 160

Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu
165 170 175

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro
180 185 190

Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala
195 200 205

Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe

210 215 220

Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Thr Val Leu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
245 250 255

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
260 265 270

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

275 280 285

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
290 295 300

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
305 310 315 320

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
325 330 335

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

340 345 350
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu
 370 375 380
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

 405 410 415
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430
 Tyr Ser Ala Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Trp Val Asn
 485 490 495
 Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His
 500 505 510
 Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys
 515 520 525
 Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu

 530 535 540
 Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile
 545 550 555 560
 Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly
 565 570 575
 Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu
 580 585 590

Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser

595

600

605

<210> 189

<211> 560

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 189

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 Asp Lys Trp Tyr Gly Ser Ala Trp Arg Gly Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly

145 150 155 160

Ser Tyr Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu

165 170 175

Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu Ile His Phe Asn Asn Gln Arg Pro

180	185	190	
Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala			
195	200	205	
Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe			
210	215	220	
Cys Ser Thr Trp Asp Asp Ser Leu Lys Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly			
225	230	235	240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro			
245	250	255	
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys			
260	265	270	
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val			
275	280	285	
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr			
290	295	300	
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu			
305	310	315	320
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His			
325	330	335	
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys			
340	345	350	
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln			
355	360	365	
Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu			
370	375	380	
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro			
385	390	395	400
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn			
405	410	415	
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Lys Leu			
420	425	430	

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Thr Cys
 485 490 495

Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser Tyr
 500 505 510
 Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg
 515 520 525
 Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn Lys Ala Thr
 530 535 540
 Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro
 545 550 555 560

<210> 190

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Synthetic sequence

<400> 190

gtgtattact gtgcgagaga taaagggtat ggcagtggtt ggaggggtga ctactggggc 60
 caggga 66

<210> 191

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

Ala Pro Thr Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys

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

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

130

<210> 192

<211> 133

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> 81

<223> Xaa = C T G W I S E and K

<220><221> misc_feature

<222> 82

<223> Xaa = Y P V W L A and G

<220><221> misc_feature

<222> 83

<223> Xaa = S T Q G M E R and K

<220><221> misc_feature

<222> 85

<223> Xaa = A V S and T

<220><221> misc_feature

<222> 86

<223> Xaa = I L T and V

<220><221> misc_feature

<222> 87

<223> Xaa = S T E D and R

<220><221> misc_feature

<222> 89

<223> Xaa = I A M and V

<220><221> misc_feature

<222> 90

<223> Xaa = S T N Q I G E K and R

<220><221> misc_feature

<222> 91

<223> Xaa = V L and I

<220><221> misc_feature

<222> 92

<223> Xaa = N T I and L

<220><221> misc_feature

<222> 93

<223> Xaa = V A and I

<220><221> misc_feature

<222> 94

<223> Xaa = Q L G K and R

<220><221> misc_feature

<222> 95

<223> Xaa = A D and E

<400> 192

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50					55					60									
Pro	Leu	Glu	Glu	Val	Leu	Asn	Leu	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu				
65					70					75					80				
Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Xaa	Xaa	Xaa	Asn	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Leu				
					85					90					95				
Lys	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala				
					100					105					110				
Thr	Ile	Val	Glu	Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Cys	Gln	Ser	Ile				
					115					120					125				
Ile	Ser	Thr	Leu	Thr															
130																			