(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0051789
(43) 공개일자 2020년05월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2851 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2020-7010605
(22) 출원일자(국제) 2018년09월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년04월13일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/050916
(87) 국제공개번호 WO 2019/055677
국제공개일자 2019년03월21일
(30) 우선권주장
62/558,510 2017년09월14일 미국(US)

(71) 출원인
드래곤플라이 쎄라퓨틱스, 인크.
미국 매사추세츠주 02451 월섬 게이트하우스 드라이브 35
(72) 발명자
창, 그레고리, 피.
미국 02155 매사추세츠주 메드포드 선더스 스트리트 143
청, 앤, 에프.
미국 01773 매사추세츠주 링컨 모닝사이드 래인 25
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상남

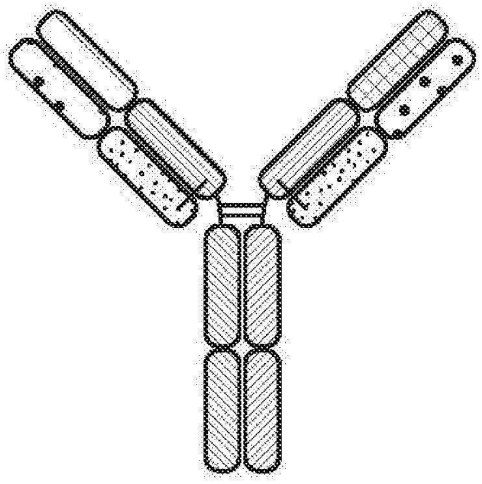
전체 청구항 수 : 총 48 항

(54) 발명의 명칭 **NKG2D, CD16, 및 C-유형 렉틴-유사 분자-1 (CLL-1)에 결합하는 단백질**

(57) 요 약

본 발명은 종양-연관 항원 CLEC12A, 및 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 본 발명의 한 측면은 NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위; CLEC12A에 결합하는 제2 항원-결합 부위; 및 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인, 그의 부분, 또는 CD16에 결합하는 제3 항원-결합 부위를 포함하는 단백질을 제공한다. 항원-결합 부위 각각은 항체 중쇄 가변 도메인 및 항체 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있거나, 또는 항원-결합 부위 중 하나 이상은 단일 도메인 항체, 예컨대 VHH 항체 또는 VNAR 항체일 수 있다. 본 발명의 또 다른 측면은 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 다중-특이적 결합 단백질의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/283 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/75 (2013.01)
C07K 2317/94 (2013.01)
(72) 발명자
해니, 윌리엄
미국 01778 매사추세츠주 웨이랜드 링컨 로드 61
룬드, 브래들리, 엠.
미국 03766 뉴햄프셔주 레바논 루센트 드라이브 7
프린츠, 비앙카
미국 03766 뉴햄프셔주 레바논 루센트 드라이브 7

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기를 포함하는 단백질:

(a) NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위;

(b) CLL-1/CLEC12A에 결합하는 제2 항원-결합 부위; 및

(c) CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인 또는 그의 부분, 또는 CD16에 결합하는 제3 항원-결합 부위.

청구항 2

제1항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 인간, 비-인간 영장류, 및 설치류에서 NKG2D에 결합하는 것인 단백질.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 4

제3항에 있어서, 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 동일한 폴리펩티드 상에 존재하는 것인 단백질.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 제2 항원-결합 부위가 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 6

제5항에 있어서, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 동일한 폴리펩티드 상에 존재하는 것인 단백질.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 제1 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인이 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 것인 단백질.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:57, SEQ ID NO:59, SEQ ID NO:61, SEQ ID NO:69, SEQ ID NO:77, SEQ ID NO:85, 및 SEQ ID NO:93으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:41과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:42와 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:49와 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:50과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 11

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:57과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:58과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:59와 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:60과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 13

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:61과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:62와 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 14

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:69와 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:70과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 15

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:77과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:78과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 16

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:85와 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:86과 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 17

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:93과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:94와 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 18

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:101과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:102와 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 19

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 SEQ ID NO:103과 적어도 90% 동일한 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:104와 적어도 90% 동일한 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 20

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 항원-결합 부위가 단일-도메인 항체인 단백질.

청구항 21

제20항에 있어서, 단일-도메인 항체가 V_HH 단편 또는 V_{NAR} 단편인 단백질.

청구항 22

제1항, 제2항, 제20항 및 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 항원-결합 부위가 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 23

제22항에 있어서, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인이 동일한 폴리펩티드 상에 존재하는 것인 단백질.

청구항 24

제1항 내지 제4항 및 제8항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 항원-결합 부위가 단일-도메인 항체인 단백질.

청구항 25

제24항에 있어서, 제2 항원-결합 부위가 V_HH 단편 또는 V_{NAR} 단편인 단백질.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 항원-결합 부위가 CLEC12A에 결합하고, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인이 SEQ ID NO:115와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인이 SEQ ID NO:119와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질.

청구항 27

제26항에 있어서, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인이 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질:

SEQ ID NO:116의 아미노산 서열과 동일한 중쇄 CDR1 서열;

SEQ ID NO:117의 아미노산 서열과 동일한 중쇄 CDR2 서열; 및

SEQ ID NO:118의 아미노산 서열과 동일한 중쇄 CDR3 서열.

청구항 28

제27항에 있어서, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인이 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질:

SEQ ID NO:120의 아미노산 서열과 동일한 경쇄 CDR1 서열;

SEQ ID NO:121의 아미노산 서열과 동일한 경쇄 CDR2 서열; 및

SEQ ID NO:122의 아미노산 서열과 동일한 경쇄 CDR3 서열.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 단백질이 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인의 부분을 포함하며, 여기서 항체 Fc 도메인은 힌지 및 CH2 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 30

제29항에 있어서, 항체 Fc 도메인이 인간 IgG1 항체의 힌지 및 CH2 도메인을 포함하는 것인 단백질.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, Fc 도메인이 인간 IgG1 항체의 아미노산 234-332와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 단백질.

청구항 32

제29항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인이 인간 IgG1의 Fc 도메인과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, K439로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 위치에서 상이한 것인 단백질.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 단백질 및 제약상 허용가능한 담체를 포함하는 제형.

청구항 34

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 단백질을 발현하는 하나 이상의 핵산을 포함하는 세포.

청구항 35

종양 및 천연 킬러 세포를 제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 단백질에 노출시키는 것을 포함하는, 종양 세포 사멸을 직접적으로 및/또는 간접적으로 증진시키는 방법.

청구항 36

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 따른 단백질 또는 제33항에 따른 제형을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 암이 급성 골수성 백혈병 (AML), 골수이형성 증후군 (MDS), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 골수증식성 신생물 (MPN), 림프종, 비-호지킨 림프종, 및 전형적 호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 38

제37항에 있어서, AML이 미분화 급성 골수모구성 백혈병, 최소 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 급성 골수단핵구성 백혈병, 호산구증가증 동반 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적혈구성 백혈병, 급성 거핵모구성 백혈병 (AMKL), 급성 호염기성 백혈병, 섬유증 동반 급성 범골수증, 및 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물 (BPDCN)로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 39

제37항 또는 제38항에 있어서, AML이 AML 백혈병 줄기 세포 (LSC) 상에서의 CLL-1의 발현을 특징으로 하는 것인 방법.

청구항 40

제39항에 있어서, LSC가 CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 및 CD96으로부터 선택된 막 마커를 추가로 발현하는 것인 방법.

청구항 41

제37항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, AML이 최소 잔존 질환 (MRD)인 방법.

청구항 42

제41항에 있어서, MRD가 *FLT3-ITD* ((Fms-유사 티로신 키나제 3)-내부 탠덤 중복 (ITD)), *NPM1* (뉴클레오포스민 1), *DNMT3A* (DNA 메틸트랜스퍼라제 유전자 DNMT3A), 및 *IDH* (이소시트레이트 데히드로게나제 1 및 2 (IDH1 및 IDH2))로부터 선택된 돌연변이의 존재 또는 부재를 특징으로 하는 것인 방법.

청구항 43

제37항에 있어서, MDS가 다계열 이형성증 동반 MDS (MDS-MLD), 단일 계열 이형성증 동반 MDS (MDS-SLD), 고리 철적모구 동반 MDS (MDS-RS), 과다 모세포 동반 MDS (MDS-EB), 단리된 del(5q) 동반 MDS, 및 미분류 MDS (MDS-U)로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 44

제37항에 있어서, MDS가 원발성 MDS 또는 속발성 MDS인 방법.

청구항 45

제37항에 있어서, ALL이 B-세포 급성 림프모구성 백혈병 (B-ALL) 및 T-세포 급성 림프모구성 백혈병 (T-ALL)으

로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 46

제37항에 있어서, MPN이 진성 적혈구증가증, 본태성 혈소판혈증 (ET), 및 골수섬유증으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 47

제37항에 있어서, 비-호지킨 림프종이 B-세포 림프종 및 T-세포 림프종으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 48

제37항에 있어서, 림프종이 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 림프모구성 림프종 (LPL), 미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 버킷 림프종 (BL), 원발성 종격동 거대 B-세포 림프종 (PMBL), 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 모발상 세포 백혈병, 형질 세포 골수종 (PCM) 또는 다발성 골수종 (MM), 성숙 T/NK 신생물, 및 조직구성 신생물로부터 선택되는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원의 상호 참고

[0002] 본 출원은 2017년 9월 14일에 출원한 미국 특허 가출원 번호 62/558,510을 우선권으로 주장한다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이는 그의 전문이 본원에 참고로 포함된다. 2018년 9월 11일에 생성된 상기 ASCII 사본은 DFY-041WO_SL.txt로 명명되고, 89,993 바이트의 크기를 갖는다.

[0005] 발명의 분야

[0006] 본 발명은 NKG2D, CD16, 및 종양-연관 항원, C-유형 렉틴-유사 분자-1 (CLL-1)에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 암의 치료를 위해 문헌에서 보고된 실질적인 연구 노력 및 과학적 진보에도 불구하고 상기 질환은 계속해서 상당한 건강 문제이다. 가장 흔히 진단되는 일부 암에는 전립선암, 유방암, 폐암, 및 결장직장암이 포함된다. 전립선암은 남성에서 가장 흔한 형태의 암이다. 유방암은 여성에서 주요 사망 원인으로 남아있다. 혈액암 및 골수암은 다발성 골수종, 백혈병 및 림프종을 비롯하여 흔히 진단되는 암 유형이다. 이들 암에 대한 현재의 치료 옵션은 모든 환자에 대해 효과적이지 않고/거나 실질적인 부작용을 가질 수 있다. 다른 유형의 암 또한 기존 치료 옵션을 이용하여 치료하기가 여전히 힘들다.

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

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

[0010] NK 세포는 그들의 표면 상의 다양한 활성화 및 억제 수용체를 통해 신호에 반응한다. 예를 들어, NK 세포가 건강한 자가-세포와 직면할 때, 그들의 활성은 킬러-세포 이뮤노글로불린-유사 수용체 (KIR)의 활성화를 통해 억

제된다. 대안적으로, NK 세포가 외래 세포 또는 암 세포와 직면할 때, 이들은 그들의 활성화 수용체 (예를 들어, NKG2D, NCR, DNAM1)를 통해 활성화된다. NK 세포는 또한 그들의 표면 상의 CD16 수용체를 통해 일부 이뮤노글로불린의 불변 영역에 의해 활성화된다. 활성화에 대한 NK 세포의 전반적인 민감도는 자극 및 억제 신호의 합에 따라 좌우된다.

[0011] C-유형 렉틴 도메인 패밀리 12 구성원 A 유전자는 C-유형 렉틴/C-유형 렉틴-유사 도메인 (CTL/CTLD) 수퍼패밀리의 구성원을 코딩한다. 이 패밀리의 구성원은 공통 단백질 폴드를 공유하고, 세포 부착, 세포-세포 신호전달, 당단백질 턴오버, 및 염증 및 면역 반응에서의 역할과 같은 다양한 기능을 갖는다. 이 유전자에 의해 코딩되는 단백질은 과립구 및 단핵구 기능의 부정적인 조절인자이다. MICL 또는 CLEC12A로도 공지된 인간 C-유형 렉틴-유사 분자-1 (CLL-1)은 유형 II 막횡단 당단백질이며, 면역 조절에 관여하는 C-유형 렉틴-유사 수용체의 거대 패밀리의 구성원이다. CLL-1/CLEC12A는 90%가 넘는 급성 골수성 백혈병 환자에서 백혈병 줄기 세포 상에서 과다발현되지만, 정상 조혈줄기 세포에서는 그렇지 않다. 본 발명은 CLL-1/CLEC12A에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질 및 암의 치료에서 상기 단백질의 용도를 제공한다.

발명의 내용

[0012] 본 발명은 종양-연관 항원 CLEC12A, 및 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 이러한 단백질은 1종 초과의 NK 활성화 수용체에 결속할 수 있고, 천연 리간드와 NKG2D의 결합을 차단할 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 단백질은 인간, 및 다른 종, 예컨대 설치류 및 시노몰구스 원숭이에서 NK 세포를 효능화시킬 수 있다. 본 발명의 다양한 측면 및 실시양태는 하기에 더욱 상세하게 기재된다.

[0013] 따라서, 본 발명의 한 측면은 NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위; CLEC12A에 결합하는 제2 항원-결합 부위; 및 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인, 그의 부분, 또는 CD16에 결합하는 제3 항원-결합 부위를 포함하는 단백질을 제공한다. 항원-결합 부위 각각은 항체 중쇄 가변 도메인 및 항체 경쇄 가변 도메인 (예를 들어, 항체에서와 같이 배열되거나, 또는 함께 융합되어 scFv를 형성함)을 포함할 수 있거나, 또는 항원-결합 부위 중 하나 이상은 단일 도메인 항체, 예컨대 V_HH 항체, 예컨대 낙타과 항체 또는 V_{NAR} 항체, 예컨대 연골 어류에서 발견되는 것들일 수 있다.

[0014] 일부 실시양태에서, NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 SEQ ID NO:1과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖고/거나 SEQ ID NO:1의 CDR1 (SEQ ID NO:105), CDR2 (SEQ ID NO:106) 및 CDR3 (SEQ ID NO:107) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함함으로써, SEQ ID NO:1과 관련된 중쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. SEQ ID NO:1과 관련된 중쇄 가변 도메인은 다양한 경쇄 가변 도메인과 커플링되어 NKG2D 결합 부위를 형성할 수 있다. 예를 들어, SEQ ID NO:1과 관련된 중쇄 가변 도메인을 포함하는 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 및 40과 관련된 서열 중 어느 하나로부터 선택된 경쇄 가변 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:1과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인, 및 SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38 및 40으로부터 선택된 서열 중 어느 하나와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0015] 대안적으로, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:41과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:42와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:41과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:41의 CDR1 (SEQ ID NO:43), CDR2 (SEQ ID NO:44) 및 CDR3 (SEQ ID NO:45) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:42와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:42의 CDR1 (SEQ ID NO:46), CDR2 (SEQ ID NO:47) 및 CDR3 (SEQ ID NO:48) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0016] 다른 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:49와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:50과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:49와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나

SEQ ID NO:49의 CDR1 (SEQ ID NO:51), CDR2 (SEQ ID NO:52) 및 CDR3 (SEQ ID NO:53) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:50과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:50의 CDR1 (SEQ ID NO:54), CDR2 (SEQ ID NO:55) 및 CDR3 (SEQ ID NO:56) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0017] 대안적으로, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 SEQ ID NO:57과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 및 SEQ ID NO:58과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써 SEQ ID NO:57과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:58과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다.

[0018] 또 다른 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:59와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:60과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있고, 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:59와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:59의 CDR1 (SEQ ID NO:109), CDR2 (SEQ ID NO:110) 및 CDR3 (SEQ ID NO:111) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:60과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:60의 CDR1 (SEQ ID NO:112), CDR2 (SEQ ID NO:113) 및 CDR3 (SEQ ID NO:114) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0019] 일부 실시양태에서, NKG2D에 결합하는 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:61과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:62와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:61과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:61의 CDR1 (SEQ ID NO:63), CDR2 (SEQ ID NO:64) 및 CDR3 (SEQ ID NO:65) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:62와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:62의 CDR1 (SEQ ID NO:66), CDR2 (SEQ ID NO:67) 및 CDR3 (SEQ ID NO:68) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0020] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:69와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:70과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:69와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:69의 CDR1 (SEQ ID NO:71), CDR2 (SEQ ID NO:72) 및 CDR3 (SEQ ID NO:73) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:70과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:70의 CDR1 (SEQ ID NO:74), CDR2 (SEQ ID NO:75) 및 CDR3 (SEQ ID NO:76) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0021] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:77과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:78과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:77과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:77의 CDR1 (SEQ ID NO:79), CDR2 (SEQ ID NO:80) 및 CDR3 (SEQ ID NO:81) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:78과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:78의 CDR1 (SEQ ID NO:82), CDR2 (SEQ ID NO:83) 및 CDR3 (SEQ ID NO:84) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0022] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:85와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:86과 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:85와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:85의 CDR1 (SEQ ID NO:87), CDR2 (SEQ ID NO:88) 및 CDR3 (SEQ ID NO:89) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:86과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:86의 CDR1 (SEQ ID NO:90), CDR2 (SEQ ID NO:91) 및 CDR3 (SEQ ID NO:92) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수

있다.

[0023] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:93과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:94와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제1 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:93과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:93의 CDR1 (SEQ ID NO:95), CDR2 (SEQ ID NO:96) 및 CDR3 (SEQ ID NO:97) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:94와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:94의 CDR1 (SEQ ID NO:98), CDR2 (SEQ ID NO:99) 및 CDR3 (SEQ ID NO:100) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0024] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 SEQ ID NO:101과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 및 SEQ ID NO:102와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써, SEQ ID NO:101과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:102와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다.

[0025] 일부 실시양태에서, 제1 항원-결합 부위는, 예컨대 SEQ ID NO:103과 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 및 SEQ ID NO:104와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일한 아미노산 서열을 각각 가짐으로써, SEQ ID NO:103과 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:104와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다.

[0026] 일부 실시양태에서, 제2 항원-결합 부위는 CLEC12A에 결합할 수 있고, SEQ ID NO:115와 관련된 중쇄 가변 도메인 및 SEQ ID NO:119와 관련된 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 예를 들어, 제2 항원-결합 부위의 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:115와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:115의 CDR1 (SEQ ID NO:116), CDR2 (SEQ ID NO:117) 및 CDR3 (SEQ ID NO:118) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 유사하게, 제2 항원-결합 부위의 경쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:119와 적어도 90% (예를 들어, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일할 수 있고/거나 SEQ ID NO:119의 CDR1 (SEQ ID NO:120), CDR2 (SEQ ID NO:121) 및 CDR3 (SEQ ID NO:122) 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0027] 일부 실시양태에서, 제2 항원 결합 부위는 제1 항원 결합 부위에 존재하는 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0028] 일부 실시양태에서, 단백질은 CD16에 결합하기에 충분한 항체 Fc 도메인의 부분을 포함하며, 항체 Fc 도메인은 힌지 및 CH2 도메인, 및/또는 인간 IgG 항체의 아미노산 서열 234-332와 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0029] 이들 단백질 중 하나를 함유하는 제형; 이들 단백질을 발현하는 하나 이상의 핵산을 함유하는 세포, 및 이들 단백질을 이용하여 종양 세포 사멸을 증진시키는 방법 또한 제공된다.

[0030] 본 발명의 또 다른 측면은 환자에서 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 암의 치료를 필요로 하는 환자에게 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 다중-특이적 결합 단백질을 이용하여 치료하기 위한 예시적인 암에는 예를 들어 급성 골수성 백혈병 (AML), 골수이형성 증후군 (MDS), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 골수증식성 신생물 (MPN), 림프종, 비-호지킨 림프종, 및 전형적 호지킨 림프종이 포함된다.

[0031] 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 암은 미분화 급성 골수모구성 백혈병, 최소 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 급성 골수단핵구성 백혈병, 호산구증가증 동반 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적혈구성 백혈병, 급성 거핵모구성 백혈병 (AMKL), 급성 호염기성 백혈병, 섬유증 동반 급성 범골수증, 및 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물 (BPDCN)로부터 선택된 AML이다.

[0032] 본 발명의 특정 실시양태에서, 암은 다계열 이형성증 동반 MDS (MDS-MLD), 단일 계열 이형성증 동반 MDS (MDS-SLD), 고리 철적모구 동반 MDS (MDS-RS), 과다 모세포 동반 MDS (MDS-EB), 단리된 del(5q) 동반 MDS, 및 미분류 MDS (MDS-U)로부터 선택된 MDS이다.

[0033] 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 ALL은 B-세포 급성 림프모구성 백혈병 (B-ALL) 및 T-세포 급성

림프모구성 백혈병 (T-ALL)으로부터 선택된다. 본 발명의 실시양태에서, 치료하고자 하는 MPN은 진성 적혈구증가증, 본태성 혈소판혈증 (ET), 및 골수섬유증으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 비-호지킨 림프종은 B-세포 림프종 및 T-세포 림프종으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 림프종은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 림프모구성 림프종 (LPL), 미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 버킷 림프종 (BL), 원발성 종격동 거대 B-세포 림프종 (PMBL), 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 모발상 세포 백혈병, 형질 세포 골수종 (PCM) 또는 다발성 골수종 (MM), 성숙 T/NK 신생물, 및 조직구성 신생물로부터 선택된다.

도면의 간단한 설명

[0034] **도 1**은 이종이량체성 다중-특이적 항체 (삼중특이적 결합 단백질 (TriNKET))의 대표도이다. 각각의 아암은 NKG2D-결합 도메인 또는 종양 연관 항원-결합 도메인을 대표할 수 있다. 일부 실시양태에서, NKG2D- 및 종양 연관 항원- 결합 도메인은 공통 경쇄를 공유할 수 있다.

도 2는 이종이량체성 다중-특이적 항체의 대표도이다. NKG2D-결합 도메인 또는 종양 연관 항원-결합 도메인은 scFv 포맷을 가질 수 있다 (우측 아암).

도 3은 ELISA 검정에서 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)과 인간 재조합 NKG2D의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 4는 ELISA 검정에서 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)과 시노몰구스 재조합 NKG2D의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 5는 ELISA 검정에서 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)과 마우스 재조합 NKG2D의 결합 친화도를 입증하는 선 그래프이다.

도 6은 유동 세포분석법에 의해 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)과 인간 NKG2D를 발현하는 EL4 세포의 결합을 입증하는 막대 그래프이며, 백그라운드 대비 평균 형광 강도 (MFI) 배수 (FOB)를 제시한다.

도 7은 유동 세포분석법에 의해 NKG2D-결합 도메인 (클론으로 열거됨)과 마우스 NKG2D를 발현하는 EL4 세포의 결합을 입증하는 막대 그래프이며, 백그라운드 대비 평균 형광 강도 (MFI) 배수 (FOB)를 제시한다.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

도 19a-19c는 CD16 및 NKG2D-결합을 이용하는 NK 세포의 상승작용적 활성화의 막대 그래프이다. 도 19a는 CD107a의 수준을 입증하고; 도 19b는 IFNγ의 수준을 입증하고; 도 19c는 CD107a 및 IFNγ의 수준을 입증한다.

그래프는 평균 (n = 2) ± SD를 나타낸다. 데이터는 5명의 상이한 건강한 공여자를 이용하는 5회의 독립적인 실험을 대표한다.

도 20은 트리오맙 형태의 삼중특이적 결합 단백질 (TriNKET)의 대표도이며, 이는 IgG-유사 형태를 유지하는 삼관능성의 이중특이적 항체이다. 이 키메라는 2가지 모 항체로부터 유래된 2개의 절반 항체로 이루어지고, 이들 각각은 1개의 경쇄 및 1개의 중쇄를 갖는다. 트리오맙 형태는 1/2의 래트 항체 및 1/2의 마우스 항체를 함유하는 이종이량체성 구축물일 수 있다.

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

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

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

도 24는 2-in-1 Ig 포맷의 TriNKET의 대표도이다.

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

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

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

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

도 29는 Cov-X-바디 형태의 TriNKET의 대표도이다.

도 30a 및 30b는 κλ-바디 형태의 TriNKET의 대표도이며, 이는 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc에 융합된 2개의 상이한 Fab 단편을 갖는 이종이량체성 구축물이며: 항원 1을 표적화하는 1개의 Fab 단편은 카파 LC를 함유하고, 항원 2를 표적화하는 제2 Fab 단편은 람다 LC를 함유한다. 도 30a는 κλ-바디의 한 형태의 예시적인 대표도이고; 도 30b는 또 다른 κλ-바디의 예시적인 대표도이다.

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

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

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

도 34는 항원 2에 결합하는 Fab 단편이 항원 1에 결합하는 Fab 단편의 HC의 N 말단에 융합된 동종이량체성 구축물인 Fit-Ig이다. 상기 구축물은 야생형 Fc를 함유한다.

도 35는 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A) 및 항-CLEC12A 모노클로날 항체와 CLEC12A를 발현하는 인간 AML 세포주 SKM-1의 결합을 제시하는 선 그래프이다.

도 36은 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A) 및 항-CLEC12A 모노클로날 항체와 CLEC12A를 발현하는 인간 AML 세포주 U937의 결합을 제시하는 선 그래프이다.

도 37은 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A) 및 항-CLEC12A 모노클로날 항체와 인간 NKG2D를 발현하는 EL4 세포의 결합을 제시하는 선 그래프이다.

도 38은 HL60 세포 상에서의 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A), 항-CLEC12A 항체, 및 항-CD33 항체 린투주맙의 내재화를 제시하는 선 그래프이다.

도 39는 SKM-1 세포 상에서의 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A), 항-CLEC12A 항체, 및 항-CD33 항체 린투주맙의 내재화를 제시하는 선 그래프이다.

도 40은 U937 세포 상에서의 CLEC12A-표적화 TriNKET (예를 들어, A49-TriNKET-CLEC12A) 항-CLEC12A 항체, 및 항-CD33 항체 린투주맙의 내재화를 제시하는 선 그래프이다.

도 41은 CLEC12A-표적화 TriNKET가 HL60 표적 세포의 일차 인간 NK 세포 사멸을 매개함을 제시하는 선 그래프이다. 대조군 항체는 항-CLEC12A 모노클로날 항체 및 비특이적 TriNKET (예를 들어, CLEC12A를 표적화하지 않는 TriNKET)이다.

도 42는 CLEC12A-표적화 TriNKET가 Mv4-11 표적 세포의 일차 인간 NK 세포 사멸을 매개함을 제시하는 선 그래프이다. 대조군 항체는 항-CLEC12A 모노클로날 항체 및 비특이적 TriNKET (예를 들어, CLEC12A를 표적화하지 않는 TriNKET)이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 본 발명은 암 세포 상의 CLEC12A, 및 천연 킬러 세포를 활성화시키기 위해 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질, 이러한 다중-특이적 결합 단백질을 포함하는 제약 조성물, 및 암 치료를 위해 이러한 다중-특이적 단백질 및 제약 조성물을 이용하는 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 다양한 측면은 섹션별로 하기에 설명되지만, 하나의 특별한 섹션에 기재된 본 발명의 측면이 임의의 다른 섹션으로 제한되지 않는다.

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

[0037] 본원에서 사용된 바와 같이, 단수형 용어는 "하나 이상"을 의미하고, 문맥상 부적절하지 않다면 복수형을 포함한다.

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

[0039] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "종양 연관 항원"은 암과 연관된 단백질, 당단백질, 강글리오시드, 탄수화물, 지질을 비롯하여 이로 제한되지 않는 임의의 항원을 의미한다. 이러한 항원은 악성 세포 상에서 또는 종양 미세환경에서, 예컨대 종양-연관 혈관, 세포외 매트릭스, 간엽성 간질, 또는 면역 침윤물 상에서 발현될 수 있다.

[0040] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에 기재된 방법 및 조성물에 의해 치료되는 유기체를 지칭한다. 이러한 유기체에는 바람직하게는 포유류 (예를 들어, 뮤린, 원숭이, 말, 소, 돼지, 개, 고양이

등)이 포함되고, 더욱 바람직하게는 인간이 포함된다.

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

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

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

[0044] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "제약상 허용가능한 염"은 대상체에게 투여시 본 발명의 화합물 또는 그의 활성 대사물 또는 잔기를 제공할 수 있는, 본 발명의 화합물의 임의의 제약상 허용가능한 염 (예를 들어, 산 또는 염기)을 지칭한다. 관련 기술분야의 기술자에게 공지된 바와 같이, 본 발명의 화합물의 "염"은 무기 또는 유기 산 및 염기로부터 유래될 수 있다. 예시적인 산에는 염산, 브로민화수소산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-p-술폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-술폰산, 벤젠술폰산 등이 포함되나 이로 제한되지 않는다. 다른 산, 예컨대 옥살산은 그 자체로는 제약상 허용가능하지 않지만, 본 발명의 화합물 및 그들의 제약상 허용가능한 산 부가 염을 수득하는데 있어서 중간체로서 유용한 염의 제조에서 사용될 수 있다.

[0045] 예시적인 염기에는 알칼리 금속 (예를 들어, 나트륨) 수산화물, 알칼리토 금속 (예를 들어, 마그네슘) 수산화물, 암모니아, 및 화학식 NW_4^+의 화합물 (여기서, W는 C_{1-4} 알킬임) 등이 포함되나 이로 제한되지 않는다.

[0046] 예시적인 염에는 아세테이트, 아디페이트, 알기네이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 벤젠술포네이트, 비술페이트, 부티레이트, 시트레이트, 캄포레이트, 캄포르술포네이트, 시클로펜탄프로피오네이트, 디글루코네이트, 도데실술페이트, 에탄술포네이트, 푸마레이트, 플루코헵타노에이트, 글리세로포스페이트, 헤미술페이트, 헵타노에이트, 헥사노에이트, 히드로클로라이드, 히드로브로마이드, 히드로아이오다이드, 2-히드록시에탄술포네이트, 락테이트, 말레에이트, 메탄술포네이트, 2-나프탈렌술포네이트, 니코티네이트, 옥살레이트, 팔모에이트, 펙티네이트, 퍼술페이트, 페닐프로피오네이트, 피크레이트, 피발레이트, 프로피오네이트, 숙시네이트, 타르트레이트, 티오시아네이트, 토실레이트, 운데카노에이트 등이 포함되나 이로 제한되지 않는다. 염의 다른 예에는 적합한 양이온, 예컨대 Na^+, NH_4^+ 및 NW_4^+ (여기서, W는 C_{1-4} 알킬 기임) 등과 배합된 본 발명의 화합물의 음이온이 포함된다.

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

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

[0049] 일반적으로, 백분율을 특정하는 조성은 달리 명시하지 않는다면 중량을 기준으로 한다. 추가로, 변수에 대한 정의가 수반되지 않는다면, 상기 변수의 이전의 정의가 적용된다.

[0050] **I. 단백질**

[0051] 본 발명은 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체, 및 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합하는 다중-특이적 결합 단백질을 제공한다. 다중-특이적 결합 단백질은 본원에 기재된 제약 조성물 및 치료 방법에서 유용하다. 다중-특이적 결합 단백질과 천연 킬러 세포 상의 NKG2D 수용체 및 CD16 수용체의 결합은 종양-연관 항원 CLEC12A를 발현하는 종양 세포의 파괴에 대한 천연 킬러 세포의 활성을 증진시킨다. 다중-특이적 결합 단백질

과 종양-연관 항원-발현 세포의 결합은 암 세포가 천연 킬러 세포에 근접하게 만들며, 이는 천연 킬러 세포에 의한 암 세포의 직접적인 및 간접적인 파괴를 용이하게 한다. 일부 예시적인 다중-특이적 결합 단백질에 대한 추가의 기재가 하기에 제공된다.

[0052] 다중-특이적 결합 단백질의 제1 성분은 NKG2D 수용체-발현 세포에 결합하며, 상기 세포에는 NK 세포, γδ T 세포 및 $CD8^+$ αβ T 세포가 포함될 수 있으나 이로 제한되지 않는다. NKG2D 결합시, 다중-특이적 결합 단백질은 천연 리간드, 예컨대 ULBP6 (UL16 결합 단백질 6) 및 MICA (주요 조직적합성 복합체 클래스 I 쇄-관련된 A)가 NKG2D에 결합하고 NKG2D 수용체를 활성화시키는 것을 차단할 수 있다.

[0053] 다중-특이적 결합 단백질의 제2 성분은 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합한다. 종양-연관 항원-발현 세포는 백혈병, 예를 들어 급성 골수성 백혈병 및 T-세포 백혈병에서 발견될 수 있다.

[0054] 다중-특이적 결합 단백질의 제3 성분은 백혈구의 표면 상의 Fc 수용체인 CD16을 발현하는 세포, 예컨대 천연 킬러 세포, 대식세포, 호중구, 호산구, 거대 세포, 및 여포성 수지상 세포에 결합한다.

[0055] 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질은 다양한 포맷을 가질 수 있다. 예를 들어, 한 포맷은 제1 이뮤노글로불린 중쇄, 제1 이뮤노글로불린 경쇄, 제2 이뮤노글로불린 중쇄 및 제2 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하는 이종이량체성 다중-특이적 항체이다 (도 1). 제1 이뮤노글로불린 중쇄는 제1 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제1 중쇄 가변 도메인 및 임의적으로 제1 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제1 경쇄 가변 도메인 및 제1 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제1 이뮤노글로불린 중쇄와 함께 NKG2D에 결합하는 항원-결합 부위를 형성한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 제2 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제2 중쇄 가변 도메인 및 임의적으로 제2 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 경쇄 가변 도메인 및 제2 경쇄 불변 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 이뮤노글로불린 중쇄와 함께 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합하는 항원-결합 부위를 형성한다. 제1 Fc 도메인 및 제2 Fc 도메인은 함께 CD16에 결합할 수 있다 (도 1). 일부 실시양태에서, 제1 이뮤노글로불린 경쇄는 제2 이뮤노글로불린 경쇄와 동일하다.

[0056] 또 다른 예시적인 포맷은 제1 이뮤노글로불린 중쇄, 제2 이뮤노글로불린 중쇄 및 이뮤노글로불린 경쇄를 포함하는 이종이량체성 다중-특이적 항체와 관련이 있다 (도 2). 제1 이뮤노글로불린 중쇄는, 쌍을 형성하여 NKG2D에 결합하거나 또는 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합하는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인으로 구성된 단일-쇄 가변 단편 (scFv)에 링커 또는 항체 힌지를 통해 융합된 제1 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 제2 Fc (힌지-CH2-CH3) 도메인, 제2 중쇄 가변 도메인 및 임의적으로 CH1 중쇄 도메인을 포함한다. 이뮤노글로불린 경쇄는 경쇄 가변 도메인 및 불변 경쇄 도메인을 포함한다. 제2 이뮤노글로불린 중쇄는 이뮤노글로불린 경쇄와 쌍을 형성하고, NKG2D에 결합하거나 또는 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합한다. 제1 Fc 도메인 및 제2 Fc 도메인은 함께 CD16에 결합할 수 있다 (도 2).

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

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

[0059] 일부 실시양태에서, 다중-특이적 결합 단백질은 놉-인투-홀 (KIHs) 기술과 관련이 있는 KiH 공통 경쇄 (LC) 형태를 갖는다. KIH는 C_H3 도메인이 각각의 중쇄에서 "놉" 또는 "홀"을 생성하도록 조작하여 이종이량체화를 촉진하는 것과 관련이 있다. "놉-인투-홀 (KiH)" Fc 기술에 대한 개념은, 소형 잔기를 벌크 잔기로 치환시킴으로써 (예를 들어, EU 넘버링에서 $T366W_{CH3A}$) 1개의 CH3 도메인 (CH3A)에 "놉"을 도입시키는 것이었다. "놉"을 수용하기 위해, 놉에 가장 가까운 이웃 잔기를 더 작은 잔기로 교체함으로써 (예를 들어, $T366S/L368A/Y407V_{CH3B}$) 다른 CH3 도메인 (CH3B) 상에 상보적인 "홀" 표면이 생성되었다. "홀" 돌연변이는 구조화된-가이드된 파지 라이브러리 스크리닝에 의해 최적화되었다 (Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P., Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library, *J. Mol. Biol.* (1997) 270(1):26-35). KiH Fc 변이체의 X-선 결정 구조 (Elliott JM, Ultsch M, Lee J, Tong R, Takeda K, Spiess C, *et al.*, Antiparallel conformation of knob and hole aglycosylated half-antibody homodimers is mediated by a CH2-CH3 hydrophobic interaction. *J. Mol. Biol.* (2014) 426(9):1947-57; Mimoto F, Kadono

S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, Hattori K. Crystal structure of a novel asymmetrically engineered Fc variant with improved affinity for FcγRs. *Mol. Immunol.* (2014) 58(1):132-8)는, CH3 도메인 코어 계면 사이에서 입체적 상보성에 의해 유도된 소수성 상호작용에 의해 이종이량체화가 열역학적으로 선호되는 반면에, 놉-놉 및 홀-홀 계면은 각각 입체 장애 및 유리한 상호작용 방해로 인해 동종이량체를 선호하지 않는다.

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

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

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

[0063] 일부 실시양태에서, 다중-특이적 결합 단백질은 κλ-바디 형태를 가지며, 이는 이종이량체화 돌연변이에 의해 안정화된 Fc에 융합된 2개의 상이한 Fab 단편을 갖는 이종이량체성 구축물이고: 항원 1을 표적화하는 Fab 단편1은 카파 LC를 함유하는 반면에, 항원 2를 표적화하는 제2 Fab 단편은 람다 LC를 함유한다. 도 30a는 κλ-바디의 한 형태의 예시적인 대표도이고; 도 30b는 또 다른 κλ-바디의 예시적인 대표도이다.

[0064] 일부 실시양태에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Fab 아암 교환 형태 (중쇄 및 부착된 경쇄 (절반-분자)를 또 다른 분자로부터의 중쇄-경쇄 쌍과 교체함으로써 Fab 아암을 교환하여 이중특이적 항체를 생성하는 항체)를 갖는다.

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

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

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

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

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

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

[0071] 일부 실시양태에서, 다중-특이적 결합 단백질은 Fit-Ig 형태를 가지며, 이는 항원 2에 결합하는 Fab 단편이 항원 1에 결합하는 Fab 단편의 HC의 N 말단에 융합된 동종이량체성 구축물이다. 상기 구축물은 야생형 Fc를 함유한다.

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

표 1		
클론	중쇄 가변 영역 아미노산 서열	경쇄 가변 영역 아미노산 서열
ADI-27705	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:1) CDR1 (SEQ ID NO:105) – GSFSGYYWS CDR2 (SEQ ID NO:106) – EIDHSGSTNYNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:107) – ARARGPWSFDP	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSYPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:2)
ADI-27724	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:3)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPITFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:4)
ADI-27740 (A40)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:5)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:6)
ADI-27741	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG

[0073]

	KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:7)	SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQSNSYYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:8)
ADI-27743	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:9)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:10)
ADI-28153	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWGFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:11)	ELQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRTSQSISSYLNWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDSATYY CQQSYDIPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:12)
ADI-28226 (C26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:13)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:14)
ADI-28154	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:15)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPDDFATY YCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:16)
ADI-29399	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:17)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:18)

[0074]

[0075]

ADI-29401	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:19)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDIYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:20)
ADI-29403	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:21)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:22)
ADI-29405	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:23)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:24)
ADI-29407	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:25)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:26)
ADI-29419	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:27)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYSSFSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:28)
ADI-29421	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG

	KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:29)	SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYESYSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:30)
ADI-29424	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:31)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDSFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:32)
ADI-29425	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:33)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:34)
ADI-29426	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:35)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:36)
ADI-29429	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:37)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYELYSYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:38)
ADI-29447 (F47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAV YGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWI GEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARA RGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:39)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDTFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:40)

[0076]

[0077]

ADI-27727	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGDSSIRHAYYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:41) CDR1 (SEQ ID NO:43) – GTFSSYAIS CDR2 (SEQ ID NO:44) – GIIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:45) – ARGDSSIRHAYYYYGMDV	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:42) CDR1 (SEQ ID NO:46) – KSSQSVLYSSNNKNYLA CDR2 (SEQ ID NO:47) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:48) – QQYYSTPIT
ADI-29443 (F43)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGSDRFHPYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:49) CDR1 (SEQ ID NO:51) – GSISSSSYYWG CDR2 (SEQ ID NO:52) – SIYYSGSTYYNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:53) – ARGSDRFHPYFDY	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQFDTWPPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:50) CDR1 (SEQ ID NO:54) – RASQSVSRYLA CDR2 (SEQ ID NO:55) – DASNRAT CDR3 (SEQ ID NO:56) – QQFDTWPPT
ADI-29404 (F04)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIDHSGSTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARARGPWSFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:57)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCEQYDSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:58)
ADI-28200	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSLLNSGNQKNYLTWY

	GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADE STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RGRKASGSFYYYYGMDVWGQGTT VTVSS (SEQ ID NO:59) CDR1 (SEQ ID NO:109) – GTFSSYAIS CDR2 (SEQ ID NO:110) – GIIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:111) – ARRGRKASGSFYYYYGMDV	QQKPGQPPKPLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ AEDVAVYYCQNDYSYPYTFG QGTKLEIK (SEQ ID NO:60) CDR1 (SEQ ID NO:112) – ESSQSLLNSGNQKNYLT CDR2 (SEQ ID NO:113) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:114) – QNDYSYPYT
ADI- 29379 (E79)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYY CARGAPNYGDTTHDYYYMDVWG KGTTVTVSS (SEQ ID NO:61) CDR1 (SEQ ID NO:63) - YTFTSYYMH CDR2 (SEQ ID NO:64) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:65) - ARGAPNYGDTTHDYYYMDV	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQQYDDWPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:62) CDR1 (SEQ ID NO:66) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:67) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:68) - QQYDDWPFT
ADI- 29463 (F63)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVT MTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAV YYCARDTGEYYDTDDHGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:69)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISSLQSEDFAVY YCQQDDYWPPTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:70)

[0078]

	CDR1 (SEQ ID NO:71) - YTFTGYYMH CDR2 (SEQ ID NO:72) - WINPNSGGTNYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:73) - ARDTGEYYDTDDHGMDV	CDR1 (SEQ ID NO:74) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:75) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:76) - QQDDYWPPT
ADI-27744 (A44)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDGGYYDSGAGDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:77) CDR1 (SEQ ID NO:79) - FTFSSYAMS CDR2 (SEQ ID NO:80) - AISGSGGSTYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:81) - AKDGGYYDSGAGDY	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSYPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:78) CDR1 (SEQ ID NO:82) - RASQGIDSWLA CDR2 (SEQ ID NO:83) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:84) - QQGVSYPRT
ADI-27749 (A49)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:85) CDR1 (SEQ ID NO:87) - FTFSSYSMN CDR2 (SEQ ID NO:88) - SISSSSSYIYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:89) - ARGAPMGAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSFPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:86) CDR1 (SEQ ID NO:90) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:91) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:92) - QQGVSFPRT
ADI-29378 (E78)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTM	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSG

[0079]

	TRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAREGAGFAYGMDYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:93) CDR1 (SEQ ID NO:95) - YTFTSYYMH CDR2 (SEQ ID NO:96) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:97) - AREGAGFAYGMDYYYMDV	SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSDNWPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:94) CDR1 (SEQ ID NO:98) - RASQSVSSYLA CDR2 (SEQ ID NO:99) - DASNRAT CDR3 (SEQ ID NO:100) - QQSDNWPFT

[0080]

[0081] 대안적으로, US 9,273,136에 기재된 바와 같이, SEQ ID NO:101로 나타내어지는 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID

NO:102로 나타내어지는 경쇄 가변 도메인과 쌍을 형성하여, NKG2D에 결합할 수 있는 항원-결합 부위를 형성할 수 있다.

SEQ ID NO:101

QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFI
RYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRGL
GDGTYFDYWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:102

QSALTQPASVSGSPGQSITISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDDL
LPSGVSDRFSGSKSGTSAFLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTK
LTVL

[0082]

[0083] 대안적으로, US 7,879,985에 기재된 바와 같이, SEQ ID NO:103으로 나타내어지는 중쇄 가변 도메인은 SEQ ID NO:104로 나타내어지는 경쇄 가변 도메인과 쌍을 형성하여, NKG2D에 결합할 수 있는 항원-결합 부위를 형성할 수 있다.

SEQ ID NO:103

QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGHISYS
GSANYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCANWDDAFNIWG
QGTMVTVSS

SEQ ID NO:104

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASS
RATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK

[0084]

[0085] 표 2는 조합되어 CLL-1/CLEC12A에 결합할 수 있는 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인의 펩티드 서열을 열거한다.

[0086] 표 2

항체 명칭 (출처)	중쇄 가변 도메인 아미노산 서열	경쇄 가변 도메인 아미노산 서열
항-CLEC12A 항체 4331 (US 2014/0120096 A1)	EVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGYTFT SYYMHWVRQAPGQG LEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTS TSTVYMELSSLRSEDT AVYYCARGNYGDEF DYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:115) CDR1: SGYTFTSY (SEQ ID NO:116) CDR2: IINPSGGS (SEQ ID NO:117) 및 CDR3: GNYGDEFDY (SEQ ID NO:118)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQSYSTPPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:119) CDR1(SEQ ID NO:120) - RASQSISSYLN CDR2 (SEQ ID NO:121) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:122) - QQSYSTPPT

[0087]

[0088] 종양 연관 항원 CLL1에 결합할 수 있는 항원-결합 부위는 SEQ ID NO:123으로 정의된 아미노산 서열에 대한 결합에 대해 스크리닝함으로써 확인될 수 있다.

SEQ ID NO:123

MSEEVTYADLQFQNSSEMEKIPEIGKFGEKAPPAPSHVWRPAALFLTLLCLLLLIGLG
VLASMFHVTLKIEMKKMNKLQNISEELQRNISLQLMSNMNISNKIRNLSTTLQTIATK
LCRELYSKEQEHKCKPCPRRWIWHKDSCYFLSDDVQTWQESKMACAAQNASLLKIN
NKNALEFIKSQSRSYDYWLGLSPEEDSTRGMRVDNIINSSAWVIRNAPDLNNMYCGY
INRLYVQYYHCTYKKRMICEKMANPVQLGSTYFREA

[0089]

[0090] Fc 도메인 내에서, CD16 결합은 힌지 영역 및 CH2 도메인에 의해 매개된다. 예를 들어, 인간 IgG1 내에서, CD16과의 상호작용은 주로 CH2 도메인에 있는 아미노산 잔기 Asp 265 - Glu 269, Asn 297 - Thr 299, Ala 327 - Ile 332, Leu 234 - Ser 239, 및 탄수화물 잔기 N-아세틸-D-글루코사민에 집중된다 (Sondermann *et al.*, Nature, 406 (6793):267-273 참고). 공지된 도메인을 기준으로 하여, 돌연변이는 예컨대 파지-디스플레이된 라이브러리 또는 효모 표면-디스플레이된 cDNA 라이브러리를 이용함으로써 CD16과의 결합 친화도를 증진시키거나 감소시키기 위해 선택될 수 있거나, 또는 상호작용의 공지된 삼차원 구조를 기준으로 하여 고안될 수 있다.

[0091] 이종이량체성 항체 중쇄의 조립체는 동일한 세포에서 2개의 상이한 항체 중쇄 서열을 발현함으로써 달성될 수 있으며, 이는 각각의 항체 중쇄의 동종이량체의 조립체, 뿐만 아니라 이종이량체의 조립체를 유도할 수 있다. 이종이량체의 바람직한 조립체의 촉진은 US13/494870, US16/028850, US11/533709, US12/875015, US13/289934, US14/773418, US12/811207, US13/866756, US14/647480, 및 US14/830336에서 제시된 바와 같이 각각의 항체 중쇄 불변 영역의 CH3 도메인에서 상이한 돌연변이를 도입시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 돌연변이는 인간 IgG1을 기준으로 CH3 도메인에서 이루어질 수 있고, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 내에서 아미노산 치환의 구별되는 쌍의 도입은 이들 2개의 쇄가 서로 선택적으로 이종이량체화하는 것을 가능하게 한다. 하기 기재된 아미노산 치환의 위치는 모두 카바트에서와 같이 EU 인덱스에 따라 넘버링된다.

[0092] 한 시나리오에서, 제1 폴리펩티드에서의 아미노산 치환은 원래의 아미노산을 아르기닌 (R), 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y) 또는 트립토판 (W)으로부터 선택된 더 큰 아미노산으로 교체하고, 제2 폴리펩티드에서의 적어도 1개의 아미노산 치환은 원래의 아미노산(들)을 알라닌 (A), 세린 (S), 트레오닌 (T) 또는 발린 (V)으로부터 선택된 더 작은 아미노산(들)로 교체하고, 이로써 더 큰 아미노산 치환 (융기부)이 더 작은 아미노산 치환 (공동)의 표면에 들어 맞는다. 예를 들어, 한 폴리펩티드는 T366W 치환을 도입할 수 있고, 다른 것은 T366S, L368A 및 Y407V를 비롯한 3개의 치환을 도입할 수 있다.

[0093] 본 발명의 항체 중쇄 가변 도메인은 임의적으로 항체 불변 영역, 예컨대 CH1 도메인이 있거나 없이 힌지, CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG 불변 영역과 적어도 90% 동일한 아미노산 서열에 커플링될 수 있다. 일부 실시양태에서, 상기 불변 영역의 아미노산 서열은 인간 항체 불변 영역, 예컨대 인간 IgG1 불변 영역, IgG2 불변 영역, IgG3 불변 영역, 또는 IgG4 불변 영역과 적어도 90% 동일하다. 일부 다른 실시양태에서, 상기 불변 영역의 아미노산 서열은 또 다른 포유류, 예컨대 토끼, 개, 고양이, 마우스 또는 말로부터의 항체 불변 영역과 적어도 90% 동일하다. 인간 IgG1 불변 영역에 비해 하나 이상의 돌연변이를 불변 영역에, 예를 들어 Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 및/또는 K439에서 도입할 수 있다. 예시적인 치환에는 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 K439E가 포함된다.

[0094] 특정 실시양태에서, 인간 IgG1 불변 영역의 CH1에 도입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 및/또는 V173에 있을 수 있다. 특정 실시양태에서, 인간 IgG1 불변 영역의 Cκ에 도입될 수 있는 돌연변이는 아미노산 E123, F116, S176, V163, S174 및/또는 T164에 있을 수 있다.

[0095] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 3에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

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

[0096]

[0097] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 4에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

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

[0098]

[0099] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 5에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있다.

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

[0100]

[0101] 대안적으로, 각각의 폴리펩티드 쇄에서 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 6으로부터 선택될 수 있다.

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

[0102]

[0103] 대안적으로, 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 7에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있으며, 제1 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 음으로 하전된 아미노산으로 교체되고, 제2 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 양으로 하전된 아미노산으로 교체된다.

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

[0104]

[0105] 대안적으로, 적어도 1개의 아미노산 치환은 표 8에 나타낸 하기 치환 세트로부터 선택될 수 있으며, 제1 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 양으로 하전된 아미노산으로 교체되고, 제2 폴리펩티드 컬럼에서 나타낸 위치(들)는 임의의 공지된 음으로 하전된 아미노산으로 교체된다.

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

[0106]

[0107] 대안적으로, 아미노산 치환은 표 9에 나타낸 하기 세트로부터 선택될 수 있다.

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

[0108]

[0109] 대안적으로 또는 추가적으로, 이종다량체 단백질의 구조적 안정성은 제1 또는 제2 폴리펩티드 쇄에 S354C 및 반대쪽 폴리펩티드 쇄에 Y349C를 도입함으로써 증가될 수 있으며, 이는 2개의 폴리펩티드의 계면 내에서 인공적인 디술피드 브릿지를 형성한다.

[0110] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 위치 T366에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, L368 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0111] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, L368 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 위치 T366에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0112] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0113] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0114] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, D399, S400 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, N390, K392, K409 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0115] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366, N390, K392, K409 및 T411로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, D399, S400 및 Y407로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0116] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, Y349, K360 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, E357, D399 및 F405로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0117] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347, E357, D399 및 F405로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, K360, Q347 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0118] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K370, K392, K409 및 K439로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 D356, E357 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0119] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 D356, E357 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K370, K392, K409 및 K439로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0120] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, E356, T366 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, L351, L368, K392 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0121] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349, L351, L368, K392 및 K409로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 L351, E356, T366 및 D399로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0122] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 S354C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0123] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Y349C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 S354C 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0124] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K360E 및 K409W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347R, D399V 및 F405T 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0125] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 Q347R, D399V 및 F405T 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 K360E 및 K409W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0126] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366S, T368A 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0127] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366S, T368A 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T366W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0128] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, L351Y, F405A 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, T366L, K392L 및 T394W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0129] 일부 실시양태에서, 항체 불변 영역의 한 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, T366L, K392L 및 T394W 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하고, 항체 불변 영역의 다른 폴리펩티드 쇄의 아미노산 서열은 T350V, L351Y, F405A 및 Y407V 치환에 의해 IgG1 불변 영역의 아미노산 서열과 상이하다.

[0130] 상기 기재된 다중-특이적 단백질은 관련 기술분야의 기술자에게 널리 공지된 재조합 DNA 기술을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 제1 이뮤노글로불린 중쇄를 코딩하는 제1 핵산 서열을 제1 발현 벡터에 클로닝할 수 있고; 제2 이뮤노글로불린 중쇄를 코딩하는 제2 핵산 서열을 제2 발현 벡터에 클로닝할 수 있고; 이뮤노글로불린 경쇄를 코딩하는 제3 핵산 서열을 제3 발현 벡터에 클로닝할 수 있고; 제1, 제2 및 제3 발현 벡터를 함께 숙주 세포에 안정하게 형질감염시켜, 다량체성 단백질을 생성할 수 있다.

[0131] 다중-특이적 단백질의 최고 수율을 달성하기 위해, 제1, 제2 및 제3 발현 벡터의 상이한 비를 연구하여 숙주 세포로의 형질감염을 위한 최적의 비를 결정할 수 있다. 형질감염 이후, 세포 은행을 생성하기 위해 관련 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 제한된 희석, ELISA, FACS, 현미경 검사 또는 클론픽스(Clonepix)를 이용하여 단일 클론을 단리할 수 있다.

[0132] 클론을 생물 반응기 규모 증가에 적합한 조건하에 배양하고, 다중-특이적 단백질의 발현을 유지시킬 수 있다. 다중특이적 단백질을 관련 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 원심분리, 심층 여과, 세포 용해, 균질화, 냉동-해동, 친화도 정제, 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 상호작용 교환 크로마토그래피, 및 혼합-방식 크로마토그래피를 이용하여 단리하고 정제할 수 있다.

[0133] **II. 다중-특이적 단백질의 특징**

[0134] 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 NKG2D-결합 부위, CD16-결합 부위, 및 종양-연관 항원 CLEC12A를 포함한다. 일부 실시양태에서, 다중-특이적 단백질은 NKG2D 및/또는 CD16을 발현하는 세포, 예컨대 NK 세포, 및 종양-연관 항원 CLEC12A를 발현하는 종양 세포에 동시에 결합한다. 다중-특이적 단백질과 NK 세포의 결합은 종양 세포의 파괴에 대한 NK 세포의 활성을 증진시킬 수 있다.

[0135] 일부 실시양태에서, 다중-특이적 단백질은 상응하는 모노클로날 항체 (예를 들어, 미국 특허 출원 공개 번호 2104/0120096 A1에 기재된 모노클로날 항체 4331)))와 유사한 친화도로 종양-연관 항원 CLEC12A에 결합한다. 일부 실시양태에서, 다중-특이적 단백질은 상응하는 모노클로날 항체에 비해 종양-연관 항원 CLEC12A를 발현하는 종양 세포를 사멸시키는데 더욱 효과적이다.

[0136] 특정 실시양태에서, NKG2D-결합 부위 및 종양-연관 항원 CLEC12A에 대한 결합 부위를 포함하는 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 CLEC12A를 발현하는 세포와 공동 배양할 때 일차 인간 NK 세포를 활성화시킨다. NK 세포 활성화는 CD107a 탈과립화 및 IFNγ 시토카인 생산에서의 증가에 의해 나타난다. 추가로, CLEC12A에 대한 상응하는 모노클로날 항체와 비교하여, 다중-특이적 단백질은 CLEC12A를 발현하는 세포의 존재하에 인간 NK 세포의 우수한 활성화를 나타낼 수 있다.

[0137] 특정 실시양태에서, NKG2D-결합 부위 및 CLEC12A에 대한 결합 부위를 포함하는 본원에 기재된 다중-특이적 단백질은 CLEC12A를 발현하는 세포와 공동 배양할 때 휴지된 및 IL-2-활성화된 인간 NK 세포의 활성을 증진시킨다.

[0138] 특정 실시양태에서, CLEC12A에 결합하는 상응하는 모노클로날 항체와 비교하여, 다중-특이적 단백질은 CLEC12A를 발현하는 종양 세포를 표적화하는데 있어서 이점을 제공한다. 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질은 종양 성장을 감소시키고 암 세포를 사멸시키는데 더욱 효과적일 수 있다. 예를 들어, TriNKET A49-TriNKET-CLEC12A (ADI-27749로부의 NKG2D-결합 도메인, 및 CLEC12A-결합 도메인)는 항-CLEC12A 모노클로날 항체와 비교하여 증진된 효능 및 CLEC12A-발현 표적 세포의 최대 용해를 가졌다.

[0139] **III. 치료적 적용**

[0140] 본 발명은 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질 및/또는 본원에 기재된 제약 조성물을 이용하여 암을 치료하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 암의 치료가 필요한 환자에게 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질의 치료 유효량을 투여함으로써 CLEC12A를 발현하는 다양한 암을 치료하기 위해 이용될 수 있다.

[0141] 치료 방법은 치료하고자 하는 암에 따라 특징화될 수 있다. 예를 들어, 특정 실시양태에서, 암은 급성 골수성 백혈병, 다발성 골수종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 흉선종, 선양 낭성 암종, 위장암, 신암, 유방암, 교모세포종, 폐암, 난소암, 뇌암, 전립선암, 췌장암, 또는 흑색종이다.

[0142] 특정의 다른 실시양태에서, 암은 고형 종양이다. 특정의 다른 실시양태에서, 암은 결장암, 방광암, 자궁경부암, 자궁내막암, 식도암, 백혈병, 간암, 직장암, 위암, 고환암, 또는 자궁암이다. 여전히 다른 실시양태에서, 암은 혈관화 종양, 편평 세포 암종, 선암종, 소세포 암종, 흑색종, 신경교종, 신경모세포종, 육종 (예를 들어, 혈관육종 또는 연골육종), 후두암, 이하선암, 담도암, 갑상선암, 말단 흑자 흑색종, 광선 각화증, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 아데노이드 낭성 암종, 선종, 선육종, 선편평상피 암종, 항문관암, 항문암, 항문직장암, 성상세포 종양, 바르톨린선 암종, 기저 세포 암종, 담관암, 골암, 골수암, 기관지암, 기관지선 암종, 유암종, 담관 암종, 연골육종, 맥락막총 유두종/암종, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 투명 세포 암종, 결합 조직암, 낭선종, 소화계암, 십이지장암, 내분비계암, 내배엽동 종양, 자궁내막 과다형성, 자궁내막 간질성 육종, 자궁내막모양 선암종, 자궁내막 세포 암, 상의세포 암, 상피 세포 암, 유잉 육종, 안구 및 안와 암, 여성 색식기암, 국소 결절성 과다형성, 담낭암, 위 전정부 암, 위 기저부 암, 가스트린종, 교모세포종, 글루카곤종, 심장암, 혈관모세포종, 혈관내피종, 혈관종, 간선종, 간선종증, 간담관암, 간세포 암종, 호지킨병, 회장암, 인슐린종, 상피내 신형성, 상피내 편평 세포 신형성, 간내 담관암, 침윤성 편평 세포 암종, 공장암, 관절암, 카포시 육종, 골반암, 거대 세포 암종, 큰창자암, 평활근육종, 악성 검정사마귀 흑색종, 림프종, 남성 생식기 암, 악성 흑색종, 악성 중피 종양, 수모세포종, 수질상피종, 뇌막암, 중피암, 전이성 암종,

구강암, 점막표피양 암종, 다발성 골수종, 근육암, 비강암, 신경계암, 신경상피 선암종 결절성 흑색종, 비-상피성 피부암, 비-호지킨 림프종, 귀리 세포 암종, 핍지교세포 암, 구강암, 골육종, 유두상 장액성 선암종, 음경암, 인두암, 뇌하수체 종양, 형질세포종, 가육종, 폐 모세포종, 직장암, 신세포 암종, 호흡계암, 망막모세포종, 횡문근육종, 육종, 장액성 암종, 부비동암, 피부암, 소세포 암종, 소장암, 평활근육암, 연조직암, 소마토스타틴-분비 종양, 척추암, 편평 세포 암종, 횡문근육암, 중피세포하 암, 표재 확산 흑색종, T 세포 백혈병, 설암, 미분화 암종, 수뇨관암, 요도암, 비뇨기 방광암, 비뇨계암, 자궁경부암, 자궁체부암, 포도막 흑색종, 질암, 사마귀모양 암종, VIP종, 외음부암, 잘 분화된 암종, 또는 윌름스 종양이다.

[0143] 특정의 다른 실시양태에서, 암은 비-호지킨 림프종, 예컨대 B-세포 림프종 또는 T-세포 림프종이다. 특정 실시양태에서, 비-호지킨 림프종은 B-세포 림프종, 예컨대 미만성 거대 B-세포 림프종, 원발성 종격동 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 소형 림프구성 림프종, 맨틀 세포 림프종, 변연부 B-세포 림프종, 림프절외 변연부 B-세포 림프종, 결절성 변연부 B-세포 림프종, 비장 변연부 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 림프구형질세포성 림프종, 모발상 세포 백혈병, 또는 원발성 중추신경계 (CNS) 림프종이다. 특정의 다른 실시양태에서, 비-호지킨 림프종은 T-세포 림프종, 예컨대 전구체 T-림프모구성 림프종, 말초 T-세포 림프종, 피부 T-세포 림프종, 혈관면역모구성 T-세포 림프종, 림프절외 천연 킬러/T-세포 림프종, 장질환 유형 T-세포 림프종, 피하 지방층염-유사 T-세포 림프종, 역형성 거대 세포 림프종, 또는 말초 T-세포 림프종이다.

[0144] 치료하고자 하는 암은 암 세포의 표면 상에서 발현되는 특정한 항원의 존재에 따라 특징화될 수 있다. 특정 실시양태에서, 암 세포는 CLEC12A 외에도 CD2, CD19, CD20, CD30, CD38, CD40, CD52, CD70, EGFR/ERBB1, IGF1R, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4, MUC1, TROP2, cMET, SLAMF7, PSCA, MICA, MICB, TRAILR1, TRAILR2, MAGE-A3, B7.1, B7.2, CTLA4 및 PD1 중 하나 이상을 발현할 수 있다.

[0145] 본 발명의 실시양태에서, 치료하고자 하는 암은 급성 골수성 백혈병 (AML), 골수이형성 증후군 (MDS), 급성 림프모구성 백혈병 (ALL), 골수증식성 신생물 (MPN), 림프종, 비-호지킨 림프종, 및 전형적 호지킨 림프종으로부터 선택된다.

[0146] 본 발명의 일부 실시양태에서, 치료하고자 하는 암은 미분화 급성 골수모구성 백혈병, 최소 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 성숙 동반 급성 골수모구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병 (APL), 급성 골수단핵구성 백혈병, 호산구증가증 동반 급성 골수단핵구성 백혈병, 급성 단핵구성 백혈병, 급성 적혈구성 백혈병, 급성 거핵모구성 백혈병 (AMKL), 급성 호염기성 백혈병, 섬유증 동반 급성 범골수증, 및 모구성 형질세포양 수지상 세포 신생물 (BPDCN)로부터 선택된 AML이다. 본 발명의 일부 실시양태에서, AML은 AML 백혈병 줄기 세포 (LSC) 상에서의 CLL-1의 발현을 특징으로 한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, AML 대상체에서 LSC는 CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 및 CD96으로부터 선택된 막 마커를 추가로 발현한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, AML은 최소 잔존 질환 (MRD)을 특징으로 한다. 본 발명의 일부 실시양태에서, AML의 MRD는 *FLT3-ITD* ((Fms-유사 티로신 키나제 3)-내부 탠덤 중복 (ITD)), *NPM1* (뉴클레오포스민 1), *DNMT3A* (DNA 메틸트랜스퍼라제 유전자 DNMT3A), 및 *IDH* (이소시트레이트 데히드로게나제 1 및 2 (IDH1 및 IDH2))로부터 선택된 돌연변이의 존재 또는 부재를 특징으로 한다.

[0147] 본 발명의 특정 실시양태에서, 암은 다계열 이형성증 동반 MDS (MDS-MLD), 단일 계열 이형성증 동반 MDS (MDS-SLD), 고리 철적모구 동반 MDS (MDS-RS), 과다 모세포 동반 MDS (MDS-EB), 단리된 del(5q) 동반 MDS, 및 미분류 MDS (MDS-U)로부터 선택된 MDS이다.

[0148] 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 ALL은 B-세포 급성 림프모구성 백혈병 (B-ALL) 및 T-세포 급성 림프모구성 백혈병 (T-ALL)으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 MPN은 진성 적혈구증가증, 본태성 혈소판혈증 (ET), 및 골수섬유증으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 비-호지킨 림프종은 B-세포 림프종 및 T-세포 림프종으로부터 선택된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 치료하고자 하는 림프종은 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 림프모구성 림프종 (LPL), 미만성 거대 B-세포 림프종 (DLBCL), 버킷 림프종 (BL), 원발성 종격동 거대 B-세포 림프종 (PMBL), 여포성 림프종, 외투 세포 림프종, 모발상 세포 백혈병, 형질 세포 골수종 (PCM) 또는 다발성 골수종 (MM), 성숙 T/NK 신생물, 및 조직구성 신생물로부터 선택된다.

[0149] **IV. 조합 요법**

[0150] 본 발명의 또 다른 측면은 조합 요법을 제공한다. 본원에 기재된 다중-특이적 결합 단백질을 암을 치료하기 위해 추가의 치료제와 조합하여 사용할 수 있다.

[0151] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 예시적인 치료제에는 예를 들어 방사선, 미토마이신, 트레티노인, 리보무스틴, 겜시타빈, 빈크리스틴, 에토포시드, 클라드리빈, 미토브로니톨, 메토트렉세이트, 독소루비신, 카르보쿠온, 펜토스타틴, 니트라크린, 지노스타틴, 세트로렐릭스, 레트로졸, 랄티트렉세드, 다우노루비신, 파드로졸, 포테무스틴, 티말파신, 소부족산, 네다플라틴, 시타라빈, 비칼루타미드, 비노렐빈, 베스나리논, 아미노글루테티미드, 암사크린, 프로글루미드, 엘리프티늄 아세테이트, 케탄세린, 독시플루리딘, 에트레티네이트, 이소트레티노인, 스트렙토조신, 니무스틴, 빈데신, 플루타미드, 드로게닐, 부토신, 카르모푸르, 라족산, 시조필란, 카르보플라틴, 미토락톨, 테가푸르, 이포스파미드, 프레드니무스틴, 피시바닐, 레바미솔, 테니포시드, 임프로술판, 에노시타빈, 리수리드, 옥시메톨론, 타목시펜, 프로게스테론, 메피티오스탄, 에피티오스타놀, 포르메스탄, 인터페론-알파, 인터페론-2 알파, 인터페론-베타, 인터페론-감마 (IFN-γ), 콜로니 자극 인자-1, 콜로니 자극 인자-2, 데니류킨 디프티톡스, 인터류킨-2, 루테인화 호르몬 방출 인자, 및 그의 동족 수용체에 대한 차별적인 결합, 및 증가된 또는 감소된 혈청 반감기를 나타낼 수 있는 상기 언급된 작용제의 변형체가 포함된다.

[0152] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 추가의 작용제 부류는 면역 체크포인트 억제제이다. 예시적인 면역 체크포인트 억제제에는 (i) 세포독성 T-림프구-연관 항원 4 (CTLA4), (ii) 프로그래밍된 세포 사멸 단백질 1 (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4, 및 (vii) TIM3 중 하나 이상을 억제하는 작용제가 포함된다. CTLA4 억제제 이필리무맙은 흑색종의 치료를 위해 미국 식품의약국에 의해 승인되었다.

[0153] 암 치료에서 조합 요법의 일부로서 사용될 수 있는 여전히 다른 작용제는 비-체크포인트 표적 (예를 들어, 헤르셉틴) 및 비-세포독성제 (예를 들어, 티로신-키나제 억제제)를 표적화하는 모노클로날 항체 작용제이다.

[0154] 항암제의 여전히 다른 카테고리에는 예를 들어 (i) ALK 억제제, ATR 억제제, A2A 길항제, 염기 절단 복구 억제제, Bcr-Abl 티로신 키나제 억제제, 브루톤 티로신 키나제 억제제, CDC7 억제제, CHK1 억제제, 시클린-의존성 키나제 억제제, DNA-PK 억제제, DNA-PK 및 mTOR 둘 다의 억제제, DNMT1 억제제, DNMT1 억제제 + 2-클로로-데옥시아데노신, HDAC 억제제, 헷지호그 신호전달 경로 억제제, IDO 억제제, JAK 억제제, mTOR 억제제, MEK 억제제, MELK 억제제, MTH1 억제제, PARP 억제제, 포스포이노시티드 3-키나제 억제제, PARP1 및 DHODH 둘 다의 억제제, 프로테아좀 억제제, 토포이소머라제-II 억제제, 티로신 키나제 억제제, VEGFR 억제제, 및 WEE1 억제제로부터 선택된 억제제; (ii) OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 또는 ICOS의 효능제; 및 (iii) IL-12, IL-15, GM-CSF 및 G-CSF로부터 선택된 시토카인이 포함된다.

[0155] 본 발명의 단백질은 또한 원발성 병변의 수술적 제거에 대해 부가적으로 사용될 수 있다.

[0156] 다중-특이적 결합 단백질 및 추가의 치료제의 양 및 상대적인 투여 시기는 원하는 조합된 치료 효과를 달성하기 위해 선택될 수 있다. 예를 들어, 이러한 투여가 필요한 환자에게 조합 요법을 투여할 때, 조합물 중의 치료제, 또는 치료제를 포함하는 제약 조성물 또는 조성물들은 임의의 순서로, 예를 들어 순차적으로, 공동으로, 함께, 동시에 등으로 투여될 수 있다. 추가로, 예를 들어, 추가의 치료제(들)가 그의 예방적 또는 치료적 효과를 발휘하는 동안에 다중-특이적 결합 단백질을 투여할 수 있거나, 또는 그 반대로 할 수 있다.

[0157] **V. 제약 조성물**

[0158] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 단백질의 치료 유효량을 함유하는 제약 조성물을 특징으로 한다. 상기 조성물은 다양한 약물 전달 시스템에서 사용하기 위해 제형화될 수 있다. 1종 이상의 생리학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체 또한 적절한 제형을 위해 조성물에 포함될 수 있다. 본 개시내용에서 사용하기에 적합한 제형은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed., 1985]에서 확인한다. 약물 전달을 위한 방법의 간단한 검토를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Langer (Science 249:1527-1533, 1990)]을 참고한다.

[0159] 제약 조성물은 CLEC12A-결합 부위를 포함하는 다중-특이적 결합 단백질의 치료 유효량을 함유할 수 있다.

[0160] 본 개시내용의 정맥내 약물 전달 제형은 백, 펜 또는 시린지에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 백은 튜브 및/또는 니들을 포함하는 채널에 연결될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 동결건조된 제형 또는 액체 제형일 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 냉동-건조되고 (동결건조되고), 약 12-60개 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 냉동-건조될 수 있고, 45 mg의 냉동-건조된 제형이 하나의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 40 mg - 약 100 mg의 냉동-건조된 제형이 하나의 바이알에 함유될 수 있다. 특정 실시양태에서, 12, 27 또는 45개 바이알로부터의 냉동 건조된 제형을 조합하여 정맥내 약물 제형에서 단백질의 치료적 용량을 수득한다. 특정 실시양태에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 250 mg/바이알 내지 약 1000

mg/바이알로 보관될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 600 mg/바이알로 보관될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 액체 제형일 수 있고, 약 250 mg/바이알로 보관될 수 있다.

[0161] 상기 단백질은 제형을 형성하는 완충된 용액 중에 단백질의 치료 유효량을 포함하는 액체 수성 제약 제형으로 존재할 수 있다.

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

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

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

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

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

[0167] 세제 또는 계면활성제 또한 제형에 포함될 수 있다. 예시적인 세제에는 비이온성 세제, 예컨대 폴리소르베이트 (예를 들어, 폴리소르베이트 20, 80 등) 또는 폴록사머 (예를 들어, 폴록사머 188)가 포함된다. 첨가되는 세제의 양은 제형화된 항체의 응집을 감소시키고/거나 제형에서 입자의 형성을 최소화시키고/거나 흡착을 감소시키도록 하는 양이다. 특정 실시양태에서, 제형은 폴리소르베이트인 계면활성제를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제형은 세제 폴리소르베이트 80 또는 트윈 80을 함유할 수 있다. 트윈 80은 폴리옥시에틸렌 (20) 소르비탄모노올레에이트를 기재하기 위해 사용되는 용어이다 (Fiedler, Lexikon der Hifsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4th ed., 1996 참고). 특정 실시양태에서, 제형은 약 0.1 mg/mL 내지 약 10 mg/mL의 폴리소르베이트 80, 또는 약 0.5 mg/mL 내지 약 5 mg/mL를 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 약 0.1% 폴리소르베이트 80이 제형에 첨가될 수 있다.

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

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

[0170] 특정 실시양태에서, 액체 제형의 pH는 제약상 허용가능한 산 및/또는 염기의 첨가에 의해 설정될 수 있다. 특정 실시양태에서, 제약상 허용가능한 산은 염산일 수 있다. 특정 실시양태에서, 염기는 수산화나트륨일 수 있다.

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

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

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

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

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

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

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

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

[0179] 본 개시내용의 단백질은 단백질 및 동결건조보호제를 포함하는 동결건조된 제형으로 존재할 수 있다. 동결건조보호제는 당, 예를 들어 디사카라이드일 수 있다. 특정 실시양태에서, 동결건조보호제는 수크로스 또는 말토스일 수 있다. 동결건조된 제형은 또한 완충화제, 계면활성제, 벌크화제 및/또는 보존제 중 하나 이상을 포함할

수 있다.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[0191] 일반적으로, 체중을 기준으로 하는 용량은 약 0.01 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 예컨대 약 0.01 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 1 mg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 100 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 50 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 10 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 1 μg/kg 체중, 약 0.01 μg 내지 약 0.1 μg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 100 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 50 mg/kg 체중, 약 0.1 μg 내지 약 10 mg/kg 체중, 약 0.1

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

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

[0193] 상기 기재는 본 발명의 여러 측면 및 실시양태를 기재한다. 본 특허 출원은 상기 측면 및 실시양태의 모든 조합 및 치환을 고려한다.

[0194] **실시예**

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

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

[0197] NKG2D-결합 도메인은 정제된 재조합 NKG2D에 결합한다

[0198] 인간, 마우스 또는 시노몰구스 NKG2D 엑토도메인의 핵산 서열을 인간 IgG1 Fc 도메인을 코딩하는 핵산 서열과 융합하고, 발현하고자 하는 포유류 세포에 도입하였다. 정제 후에, NKG2D-Fc 융합 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰다. 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하여 비-특이적 결합을 방지한 후에, NKG2D-결합 도메인을 적정하고, NKG2D-Fc 융합 단백질로 미리 흡착된 웰에 첨가하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합되어 있고, Fc 교차-반응성을 피하기 위해 인간 카파 경쇄를 특이적으로 인식하는 이차 항체를 이용하여 일차 항체 결합을 검출하였다. 서양고추냉이 퍼옥시다제에 대한 기질인 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB)을 결합 신호를 가시화하기 위해 웰에 첨가하였고, 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. NKG2D-결합 도메인 클론, 이소타입 대조군 또는 양성 대조군 (SEQ ID NO:101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스(eBioscience)에서 입수가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함)을 각각의 웰에 첨가하였다.

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

[0200] NKG2D-결합 도메인은 NKG2D를 발현하는 세포에 결합한다

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

[0202] 모든 클론에 의해 생산된 NKG2D-결합 도메인은 인간 및 마우스 NKG2D를 발현하는 EL4 세포에 결합하였다. 양성

대조군 항체 (SEQ ID NO:101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스에서 입수가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함)는 최상의 FOB 결합 신호를 제공하였다. 각각의 클론에 대한 NKG2D-결합 친화도는 인간 NKG2D (도 6) 및 마우스 (도 7) NKG2D를 발현하는 세포에서 유사하였다.

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

[0204] ULBP-6과의 경쟁

[0205] 재조합 인간 NKG2D-Fc 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 상기 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. 포화 농도의 ULBP-6-His-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인 클론을 첨가하였다. 2-시간 인큐베이션 이후, 웰을 세척하고, NKG2D-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 ULBP-6-His-비오틴을 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 스트렙타비딘 및 TMB 기질에 의해 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-결합 도메인과 NKG2D-Fc 단백질의 특이적 결합을 웰에서 NKG2D-Fc 단백질과의 결합이 차단된 ULBP-6-His-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 항체 (SEQ ID NO:101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인은 ULBP-6이 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군은 ULBP-6과 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 8). ULBP-6 서열은 SEQ ID NO:108로 나타내어진다.

[0206] MAAAAIPALLLCLPLLFLLFGWSRARRDDPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQ
GQVDEKTFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTMAWKAQNPVLREVVDILTEQ
LLDIQLENYTPKEPLTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSIDGQTFLLFDSEKRM
WTTVHPGARKMKEKWENDKDVAMSFHYISMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEP
SAGAPLAMSSGTTQLRATATTLILCCLLIILPCFILPGI (SEQ ID NO:108)

[0207] MICA와의 경쟁

[0208] 재조합 인간 MICA-Fc 단백질을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. NKG2D-Fc-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인을 첨가하였다. 인큐베이션 및 세척 이후, MICA-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 NKG2D-Fc-비오틴을 스트렙타비딘-HRP 및 TMB 기질을 이용하여 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-결합 도메인과 NKG2D-Fc 단백질의 특이적 결합을 MICA-Fc 코팅된 웰과의 결합이 차단된 NKG2D-Fc-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 항체 (SEQ ID NO:101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인은 MICA가 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군은 MICA와 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 9).

[0209] Rae-1 델타와의 경쟁

[0210] 재조합 마우스 Rae-1델타-Fc (알앤디 시스템즈(R&D Systems)로부터 구입함)를 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, 비-특이적 결합을 감소시키기 위해 웰을 소 혈청 알부민으로 차단하였다. 마우스 NKG2D-Fc-비오틴을 웰에 첨가한 다음, NKG2D-결합 도메인을 첨가하였다. 인큐베이션 및 세척 후에, Rae-1델타-Fc 코팅된 웰에 결합된 채로 남아있는 NKG2D-Fc-비오틴을 스트렙타비딘-HRP 및 TMB 기질을 이용하여 검출하였다. 흡광도를 450 nM에서 측정하고, 540 nM에서 보정하였다. 백그라운드를 차감한 후에, NKG2D-결합 도메인과 NKG2D-Fc 단백질의 특이적 결합을 Rae-1델타-Fc 코팅된 웰과의 결합이 차단된 NKG2D-Fc-비오틴의 백분율로부터 계산하였다. 양성 대조군 (SEQ ID NO:101-104로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변 도메인, 또는 이바이오사이언스에서 입수가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5를 포함함) 및 다양한 NKG2D-결합 도메인 클론은 Rae-1델타가 마우스 NKG2D에 결합하는 것을 차단한 반면에, 이소타입 대조군 항체는 Rae-1델타와 거의 경쟁하지 않는 것으로 보였다 (도 10).

[0211] **실시예 3 - NKG2D-결합 도메인 클론은 NKG2D를 활성화시킨다**

[0212] 인간 및 마우스 NKG2D의 핵산 서열을 CD3 제타 신호전달 도메인을 코딩하는 핵산 서열에 융합시켜 키메라 항원 수용체 (CAR) 구축물을 수득하였다. 이어서, NKG2D-CAR 구축물을 깁슨(Gibson) 조립체를 이용하여 레트로바이러스 벡터에 클로닝시키고, 레트로바이러스 생산을 위해 expi293 세포에 형질감염시켰다. EL4 세포를 8 μg/mL 폴리브렌과 함께 NKG2D-CAR을 함유하는 바이러스로 감염시켰다. 감염 24 시간 후에, EL4 세포에서 NKG2D-CAR의 발현 수준을 유동 세포분석법에 의해 분석하고, 세포 표면 상에서 높은 수준의 NKG2D-CAR을 발현하는 클론을 선

택하였다.

[0213] NKG2D-결합 도메인이 NKG2D를 활성화시키는지 여부를 결정하기 위해, 이들을 마이크로플레이트의 웰에 흡착시켰고, NKG2D-CAR EL4 세포를 항체 단편-코팅된 웰 상에서 4 시간 동안 브레펠딘-A 및 모넨신의 존재하에 배양하였다. NKG2D 활성화에 대한 지표인 세포내 TNF-α 생산을 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. TNF-α 양성 세포의 백분율을 양성 대조군으로 처리된 세포에 대해 정규화하였다. 모든 NKG2D-결합 도메인은 인간 NKG2D (도 11) 및 마우스 NKG2D (도 12) 둘 다를 활성화시켰다.

[0214] **실시예 4 - NKG2D-결합 도메인은 NK 세포를 활성화시킨다**

[0215] 일차 인간 NK 세포

[0216] 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 밀도 구배 원심분리를 이용하여 인간 말초 혈액 버피 코트로부터 단리하였다. NK 세포 ($CD3^-$ $CD56^+$)를 자성 비드에 의한 음성 선택을 이용하여 PBMC로부터 단리하였고, 단리된 NK 세포의 순도는 전형적으로 >95%이었다. 이어서, 단리된 NK 세포를 NKG2D-결합 도메인이 흡착되어 있는 마이크로플레이트의 웰로 옮기기 전에, 이들을 100 ng/mL IL-2를 함유하는 배지에서 24-48 시간 동안 배양하였고, 형광단-접합된 항-CD107a 항체, 브레펠딘-A, 및 모넨신을 함유하는 배지에서 배양하였다. 배양 후에, NK 세포를 CD3, CD56 및 IFN-γ에 대한 형광단-접합된 항체를 사용하여 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. CD107a 및 IFN-γ 염색을 $CD3^-$ $CD56^+$ 세포에서 분석하여, NK 세포 활성화를 평가하였다. CD107a/IFN-γ 이중-양성 세포에서의 증가는 1개의 수용체보다는 2개의 활성화 수용체의 결속을 통한 보다 양호한 NK 세포 활성화를 나타낸다. NKG2D-결합 도메인 및 양성 대조군 (예를 들어, SEQ ID NO:101 또는 SEQ ID NO:103으로 나타내어지는 중쇄 가변 도메인, 및 SEQ ID NO:102 또는 SEQ ID NO:104로 나타내어지는 경쇄 가변 도메인)은 이소타입 대조군에 비해 $CD107a^+$ 및 IFN-γ^+가 되는 NK 세포의 높은 백분율을 나타내었다 (도 13 & 도 14는 NK 세포 준비를 위해 상이한 공여자의 PBMC를 각각 사용하는 2회의 독립적인 실험으로부터의 데이터를 나타냄).

[0217] 일차 마우스 NK 세포

[0218] 비장을 C57Bl/6 마우스로부터 입수하였고, 70 ㎛ 세포 스트레이너를 통해 분쇄하여, 단일 세포 현탁액을 수득하였다. 세포를 펠렛화하고, ACK 용해 완충제 (써모 피셔 사이언티픽(Thermo Fisher Scientific)으로부터 구입함, #A1049201; 155 mM 염화암모늄, 10 mM 중탄산칼륨, 0.01 mM EDTA) 중에 재현탁시켜, 적혈구를 제거하였다. NK 세포 단리를 위해 수확하고 준비하기 전에 남아있는 세포를 100 ng/mL hIL-2와 함께 72 시간 동안 배양하였다. 이어서, 자성 비드를 사용하는 음성 고갈 기술을 이용하여 비장 세포로부터 NK 세포 ($CD3^-NK1.1^+$)를 전형적으로 >90% 순도로 단리하였다. 정제된 NK 세포를 NKG2D-결합 도메인이 흡착되어 있는 마이크로플레이트의 웰로 옮기기 전에, 이들을 100 ng/mL mIL-15를 함유하는 배지에서 48 시간 동안 배양하고, 형광단-접합된 항-CD107a 항체, 브레펠딘-A, 및 모넨신을 함유하는 배지에서 배양하였다. NKG2D-결합 도메인-코팅된 웰에서 배양한 후에, NK 세포를 CD3, NK1.1 및 IFN-γ에 대한 형광단-접합된 항체를 사용하여 유동 세포분석법에 의해 검정하였다. CD107a 및 IFN-γ 염색을 $CD3^-$ $NK1.1^+$ 세포에서 분석하여 NK 세포 활성화를 평가하였다. CD107a/IFN-γ 이중-양성 세포에서의 증가는 1개의 수용체보다는 2개의 활성화 수용체의 결속을 통한 보다 양호한 NK 세포 활성화를 나타낸다. NKG2D-결합 도메인 및 양성 대조군 (이바이오사이언스에서 입수가능한 항-마우스 NKG2D 클론 MI-6 및 CX-5로부터 선택됨)은 이소타입 대조군에 비해 $CD107a^+$ 및 IFN-γ^+가 되는 NK 세포의 높은 백분율을 나타내었다 (도 15 & 도 16은 NK 세포 준비를 위해 상이한 마우스를 각각 사용하는 2회의 독립적인 실험으로부터의 데이터를 나타냄).

[0219] **실시예 5 - NKG2D-결합 도메인은 표적 종양 세포의 세포독성을 가능하게 한다**

[0220] 인간 및 마우스 일차 NK 세포 활성화 검정은 NKG2D-결합 도메인과 함께 인큐베이션한 후에 NK 세포 상의 증가된 세포독성 마커를 입증하였다. 이것이 증가된 종양 세포 용해로 해석되는지 여부를 다루기 위해, 각각의 NKG2D-결합 도메인을 단일특이적 항체로 발달시킨 세포-기반 검정을 이용하였다. Fc 단편 영역은 1개의 표적화 아암으로서 사용된 반면에, Fab 단편 영역 (NKG2D-결합 도메인)은 또 다른 표적화 아암으로서 작용하여, NK 세포를 활성화시켰다. 인간 기원이며 높은 수준의 Fc 수용체를 발현하는 THP-1 세포를 종양 표적으로서 사용하였고, 퍼킨 엘머(Perkin Elmer) DELFIA 세포독성 키트를 사용하였다. THP-1 세포를 BATDA 시약으로 표지화하고, 배양 배지에서 10^5/mL로 재현탁시켰다. 이어서, 표지화된 THP-1 세포를 마이크로타이터 플레이트의 웰에서 37℃에서 3 시간 동안 NKG2D 항체 및 단리된 마우스 NK 세포와 조합하였다. 인큐베이션 후에, 20 μL의 배양물 상청액을

제거하고, 200 μL의 유로퓸 용액과 혼합하고, 어두운 곳에서 진탕하면서 15 분 동안 인큐베이션하였다. 시간-분해 형광 모듈을 구비한 페라스타(PheraStar) 플레이트 판독기에 의해 시간에 걸쳐 형광을 측정하였고 (여기 337 nM, 방출 620 nM), 특이적 용해를 키트 지침에 따라 계산하였다.

[0221] 양성 대조군, Fc에 접합된 ULBP-6 (NKG2D에 대한 천연 리간드)은 마우스 NK 세포에 의한 THP-1 표적 세포의 증가된 특이적 용해를 나타내었다. NKG2D 항체 또한 THP-1 표적 세포의 증가된 특이적 용해를 나타낸 반면에, 이소타입 대조군 항체는 감소된 특이적 용해를 나타내었다. 점선은 항체를 첨가하지 않고 마우스 NK 세포에 의한 THP-1 세포의 특이적 용해를 나타낸다 (도 17).

[0222] **실시예 6 - NKG2D 항체는 높은 열안정성을 나타낸다**

[0223] NKG2D-결합 도메인의 융점을 시차 주사 형광측정법을 이용하여 검정하였다. 외삽된 겉보기 융점은 전형적인 IgG1 항체에 비해 높았다 (도 18).

[0224] **실시예 7 - NKG2D와 CD16을 가교시킴으로써 인간 NK 세포의 상승작용적 활성화**

[0225] 일차 인간 NK 세포 활성화 검정

[0226] 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 밀도 구배 원심분리를 이용하여 말초 인간 혈액 버피 코트로부터 단리하였다. 음성 자성 비드 (스템셀(StemCell) # 17955)를 사용하여 NK 세포를 PBMC로부터 정제하였다. NK 세포는 유동 세포분석법에 의해 측정된 바와 같이 >90% $CD3^-CD56^+$이었다. 이어서, 세포를 활성화 검정에서 사용하기 전에 100 ng/mL hIL-2 (페프로테크(Peprotech) #200-02)를 함유하는 배지에서 48 시간 동안 확장시켰다. 항체를 96-웰 편평 바닥 플레이트 상에 100 μL 멸균 PBS 중 2 μg/mL (항-CD16, 바이오레전드(Biolegend) # 302013) 및 5 μg/mL (항-NKG2D, 알앤디 #MAB139)의 농도로 밤새 4℃에서 코팅한 후, 웰을 철저히 세척하여 과잉의 항체를 제거하였다. 탈과립화를 평가하기 위해, IL-2-활성화된 NK 세포를 100 ng/mL 인간 IL2 (hIL2) 및 1 μg/mL APC-접합된 항-CD107a mAb (바이오레전드 # 328619)로 보충된 배양 배지 중에서 $5x10^5$ 세포/mL로 재현탁시켰다. 이어서, $1x10^5$ 세포/웰을 항체 코팅된 플레이트 상에 첨가하였다. 단백질 수송 억제제 브레펠딘 A (BFA, 바이오레전드 # 420601) 및 모넨신 (바이오레전드 # 420701)을 각각 1:1000 및 1:270의 최종 희석으로 첨가하였다. 플레이팅된 세포를 37℃에서 5% CO_2하에 4 시간 동안 인큐베이션하였다. IFN-γ의 세포내 염색을 위해, NK 세포를 항-CD3 (바이오레전드 #300452) 및 항-CD56 mAb (바이오레전드 # 318328)로 표지화하고, 후속적으로 고정하고, 투과화시키고, 항-IFN-γ mAb (바이오레전드 # 506507)로 표지화하였다. NK 세포를 살아있는 $CD56^+CD3^-$ 세포 상에 게이팅한 후에 유동 세포분석법에 의해 CD107a 및 IFN-γ의 발현에 대해 분석하였다.

[0227] 수용체 조합물의 상대적인 효능을 연구하기 위해, 플레이트-결합된 자극에 의한 NKG2D 또는 CD16의 가교 및 두 수용체의 공동 가교를 수행하였다. 도 19 (도 19a-19c)에 제시된 바와 같이, CD16 및 NKG2D의 조합된 자극은 매우 상승된 수준의 CD107a (탈과립화) (도 19a) 및/또는 IFN-γ 생산 (도 19b)을 나타내었다. 점선은 각각의 수용체의 개별 자극의 상가적 효과를 나타낸다.

[0228] 항-CD16, 항-NKG2D, 또는 두 모노클로날 항체의 조합물에 의한 플레이트-결합된 자극 4 시간 후에 IL-2-활성화된 NK 세포의 CD107a 수준 및 세포내 IFN-γ 생산을 분석하였다. 그래프는 평균 (n = 2) ± Sd를 나타낸다. 도 19a는 CD107a의 수준을 입증하고; 도 19b는 IFNγ의 수준을 입증하고; 도 19c는 CD107a 및 IFN-γ의 수준을 입증한다. 도 19a-19c에 제시된 데이터는 5명의 상이한 건강한 공여자를 이용한 5회의 독립적인 실험을 대표한다.

[0229] **실시예 8 - 표적 세포의 삼중특이적 결합 단백질 (TriNKET)-매개된 증진된 세포독성**

[0230] **세포 발현된 인간 NKG2D에 결합하는 TriNKET의 평가**:

[0231] 인간 NKG2D에 의해 형질도입된 EL4 세포를 이용하여 A49-TriNKET-CLEC12A (클론 ADI-27749로부터의 NKG2D-결합 도메인, 및 US2014/0120096 (p. 21 참고)에 기재된 모노클로날 항체 4331로부터의 CLEC12A-결합 도메인)와 인간 NKG2D를 발현하는 세포의 결합을 시험하였다. TriNKET를 최고 농도로 희석한 다음, 순차적으로 희석하였다. mAb 또는 TriNKET 희석액을 이용하여 세포를 염색하였고, TriNKET 또는 mAb의 결합을 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 이용하여 검출하였다. 세포를 유동 세포분석법에 의해 분석하였고, 결합 MFI를 이차 항체 대조군에 대해 정규화하여, 백그라운드 대비 배수 값을 수득하였다.

[0232] 도 35 및 도 36은 CLEC12A-표적화 TriNKET와 CLEC12A를 발현하는 인간 AML 세포주의 결합을 도시한다. 항-

CLEC12A 모노클로날 항체 및 TriNKET는 SKM-1 (도 35) 및 U937 (도 36) 세포 둘 다에 대해 유사한 결합을 나타내었다.

[0233] **세포 발현된 인간 암 항원에 결합하는 TriNKET 또는 mAb의 평가:**

[0234] CLEC12A를 발현하는 인간 암 세포주를 이용하여 CLEC12A를 표적화하는 TriNKET의 종양 항원 결합을 평가하였다. 인간 AML 세포주 U937 및 SKM-1을 사용하여 TriNKET와 세포 발현된 CLEC12A의 결합을 평가하였다. TriNKET 또는 mAb를 희석하고, 각각의 세포와 함께 인큐베이션하였다. TriNKET의 결합을 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 이용하여 검출하였다. 세포를 유동 세포분석법에 의해 분석하였고, 세포 발현된 CLEC12A에 대한 결합 MFI를 이차 항체 대조군에 대해 정규화하여, 백그라운드 대비 배수 값을 수득하였다.

[0235] 도 37은 CLEC12A-TriNKET와 EL4 세포의 표면 상에서 발현된 인간 NKG2D의 결합을 도시한다. 세포 표면 상에서 발현된 NKG2D에 대한 결합은 약하였지만, 항-CLEC12A 모노클로날 항체와 비교하여 검출가능하였다.

[0236] **TriNKET 또는 mAb 내재화의 평가**:

[0237] HL60, SKM-1 및 U937 인간 AML 세포주를 이용하여 세포 표면 상에서 발현된 CLEC12A에 결합된 TriNKET의 내재화를 평가하였다. TriNKET 또는 mAb를 20 μg/mL로 희석하고, 희석액을 사용하여 세포를 염색하였다. CLEC12A의 표면 염색후 샘플을 분할하였고, 샘플의 2/3를 37℃에서 밤새 두어 내재화를 용이하게 하였고, 항체 결합된 샘플의 나머지 1/3은 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 이용하여 검출하였다. 이차 항체에 의해 염색한 후에 세포를 고정시키고, 다음 날 분석을 위해 4℃에서 밤새 보관하였다. 37℃에서 2 및 20 시간후 샘플을 인큐베이터로부터 제거하였고, 세포의 표면 상에 결합된 항체는 형광단 접합된 항-인간 IgG 이차 항체를 이용하여 검출하였다. 샘플을 고정시키고, 모든 샘플을 동일한 날에 분석하였다. 항체 또는 TriNKET의 내재화를 다음과 같이 계산하였다: % 내재화 = (1-(샘플 MFI 24시간/기준선 MFI)) * 100%.

[0238] 도 38, 39 및 40은 각각 HL60 (도 38), SKM-1 (도 39) 및 U937 (도 40) 세포와 인큐베이션한 후에 CLEC12A를 표적화하는 TriNKET의 내재화를 도시한다. CD33이 HL60 (도 38), SKM-1 (도 39) 및 U937 (도 40) 세포주에 의해 발현되기 때문에, 항-CD33 항체 린투주맙을 내재화에 대한 양성 대조군으로 사용하였다. 린투주맙은 모든 세포주에 대해 높은 수준의 내재화를 나타내었고, 시간이 지남에 따라 증가하였다. 시험한 3가지 모든 세포주에 대해 항-CLEC12A mAb 및 TrINKET는 2 시간 및 20 시간 인큐베이션 후에 유사한 수준의 내재화를 나타내었다.

[0239] **일차 인간 NK 세포 세포독성 검정:**

[0240] PBMC를 밀도 구배 원심분리를 이용하여 인간 말초 혈액 버피 코트로부터 단리하였다. 단리된 PBMC를 세척하고, NK 세포 단리를 위해 준비하였다. NK 세포를 자성 비드에 의한 음성 선택 기술을 이용하여 단리하였고, 단리된 NK 세포의 순도는 전형적으로 >90% CD3-CD56+이었다. 단리된 NK 세포를 밤새 휴지시켰다. 휴지된 NK 세포를 다음 날 세포독성 검정에서 사용하였다.

[0241] 도 41 및 42는 CLEC12A-양성 인간 AML 세포주의 일차 인간 NK 세포 사멸을 도시한다. 휴지된 인간 NK 세포는 5:1 이펙터-대-표적 비에서 HL60 (도 41) 및 Mv4-11 (도 42) 세포에 대해 거의 활성을 나타내지 않았다. 용량-반응성 방식으로, CLEC12A-표적화 TriNKET는 HL60 (도 41) 및 Mv4-11 (도 42) 세포 둘 다의 효율적인 사멸을 나타내었다. CLEC12A에 대한 모노클로날 항체는 HL60 (도 41) 및 Mv4-11 (도 42)에 대해 단지 약한 활성을 나타낸 반면에, 비-표적화 TrINKET는 활성을 나타내지 않았다. CLEC12A-TriNNKET는 HL60 세포 (도 41)에 대해 보다 양호한 효능을 나타내었으며, 이는 Mv4-11 세포 (도 42)와 비교하여 CLEC12A의 보다 높은 수준을 나타낸다.

[0242] DELFIA 세포독성 검정

[0243] 관심 표적을 발현하는 인간 암 세포주를 배양물로부터 수확하고, HBS로 세척하고, BATDA 시약 (퍼킨 엘머, AD0116)으로의 표지화를 위해 성장 배지 중에서 10^6 세포/mL로 재현탁시켰다. 표적 세포의 표지화를 위해 제조자의 지침을 따랐다. 표지화 후에, 세포를 HBS로 3회 세척하고, 배양 배지 중에서 $0.5x10^5$ 세포/mL로 재현탁시켰다. 백그라운드 웰을 제조하기 위해, 분취량의 표지된 세포를 따로 두고, 세포를 배지로부터 회전시켰다. 100 μL의 배지를 주의해서 웰에 삼중으로 첨가하여, 펠렛화된 세포의 교란을 피하였다. 100 μL의 BATDA-표지화된 세포를 96-웰 플레이트의 각각의 웰에 첨가하였다. 표적 세포로부터 자발적 방출을 위해 웰을 저장하고, 1% 트리톤-X를 첨가함으로써 표적 세포의 용해를 위해 웰을 준비하였다. 관심 종양 표적에 대한 모노클로날 항체 또는 TriNKET를 배양 배지에서 희석하고, 50 μL의 희석된 mAb 또는 TriNKET를 각각의 웰에 첨가하였다. 휴

지된 NK 세포를 배양물로부터 수확하고, 세척하고, 배양 배지 중에서 원하는 이펙터 세포 대 표적 세포 비에 따라 $1.0x10^5$-$2.0x10^6$ 세포/mL로 재현탁시켰다. 50 μL의 NK 세포를 플레이트의 각각의 웰에 첨가하여, 총 200 μL 배양물 부피를 제공하였다. 검정을 진행하기 전에, 플레이트를 37℃에서 5% CO_2하에 2-3 시간 동안 인큐베이션하였다.

[0244] 2-3 시간 동안 배양한 후에, 플레이트를 인큐베이터로부터 제거하고, 세포를 200xg에서 5 분 동안 원심분리에 의해 펠렛화하였다. 20 μL의 배양물 상청액을 제조자로부터 공급된 깨끗한 마이크로플레이트로 옮기고, 200 μL의 실온 유로퓸 용액 (퍼킨 엘머 C135-100)을 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 빛으로부터 보호하고, 플레이트 진탕기 상에서 250 rpm에서 15 분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 빅터(Victor) 3 또는 스펙트라맥스(SpectraMax)® i3X 장비 (몰레큘라 디바이시즈(Molecular Devices))를 이용하여 판독하고, 퍼센트 특이적 용해를 다음과 같이 계산하였다: (% 특이적 용해 = (실험적 방출 - 자발적 방출) / (최대 방출 - 자발적 방출)) x 100).

[0245] 참고문헌의 도입

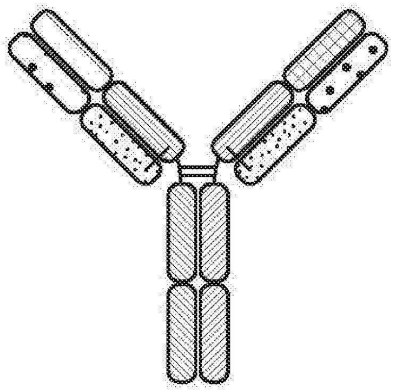
[0246] 본원에 인용된 각각의 특허 문헌 및 과학 논문의 전체 개시내용은 모든 목적을 위해 참고로 포함된다.

[0247] 등가물

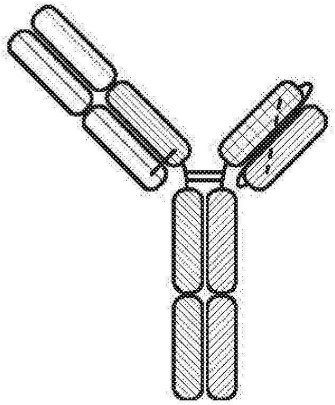
[0248] 본 발명은 그의 취지 또는 필수 특징을 벗어나지 않고 다른 특정한 형태로 실시될 수 있다. 따라서, 상기 실시양태는 본원에 기재된 본 발명을 제한하기 보다는 모든 측면에서 설명하는 것으로 고려된다. 따라서, 본 발명의 범주는 상기 기재에 의해서가 아니라 첨부된 청구범위에 의해 지정되고, 청구범위의 등가물의 의미 및 범위 내에 있는 모든 변화는 본원에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

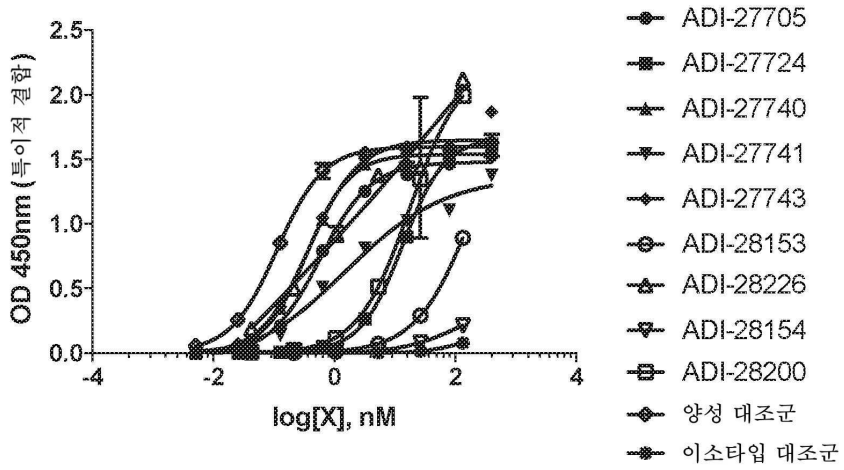
도면1



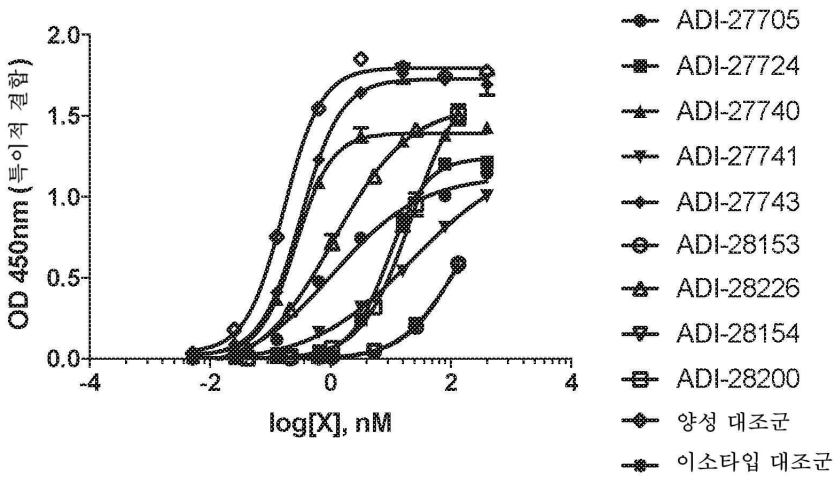
도면2



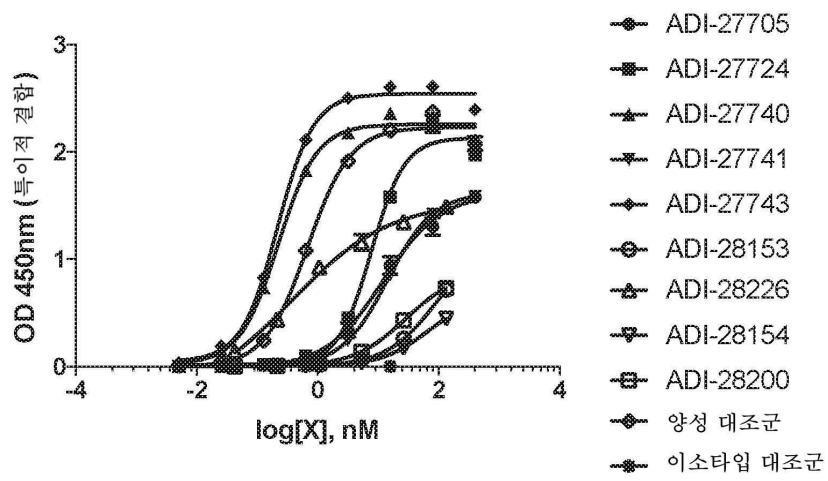
도면3


OD 450nm (특이적 결합)
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
-4
-2
0
2
4
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
양성 대조군
이소타입 대조군

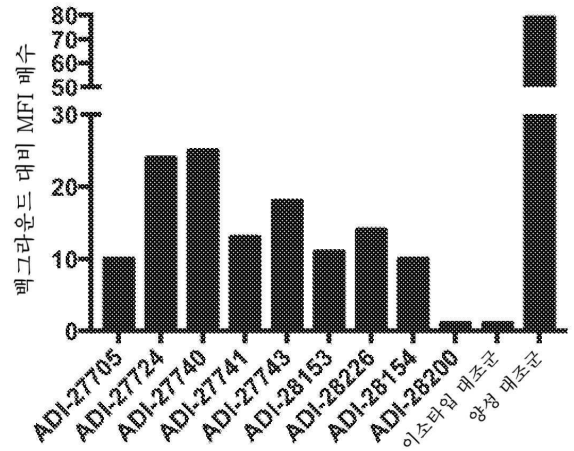
도면4


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

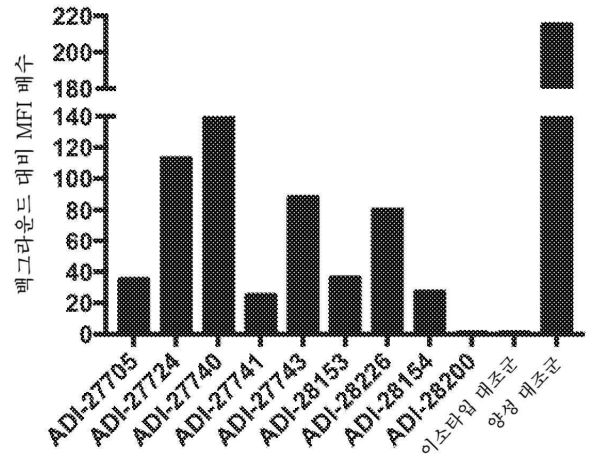
도면5


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

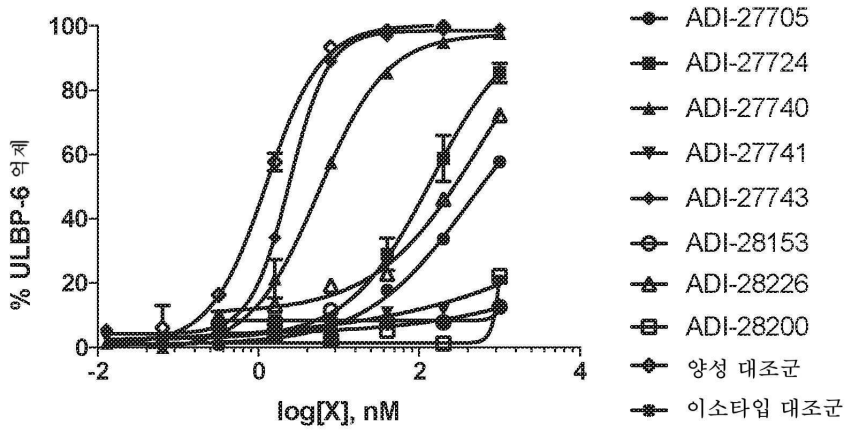
도면6


백그라운드 대비 MFI 배수
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

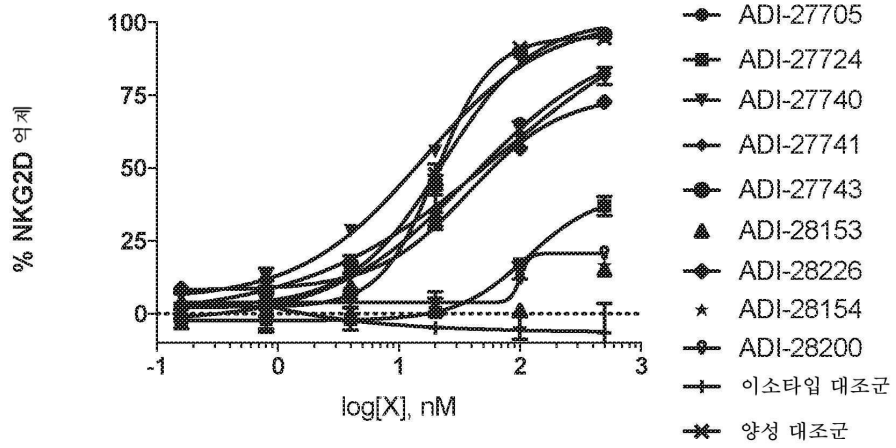
도면7


백그라운드 대비 MFI 배수
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

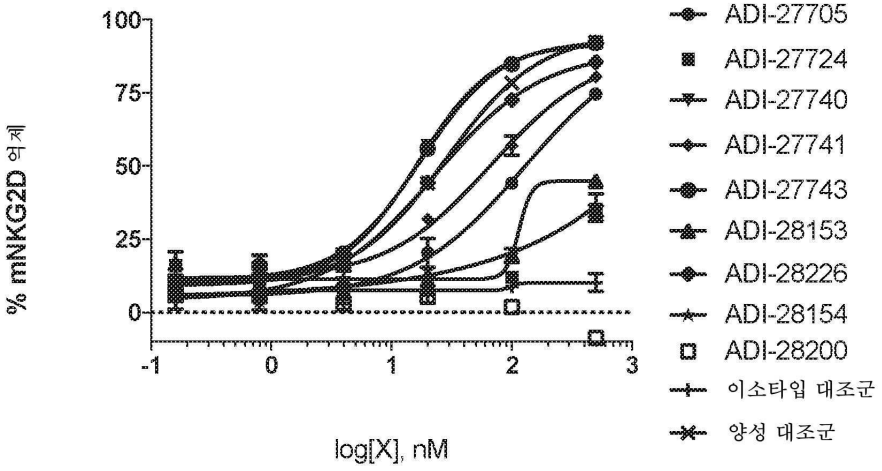
도면8


% ULBP-6 억제
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28200
양성 대조군
이소타입 대조군

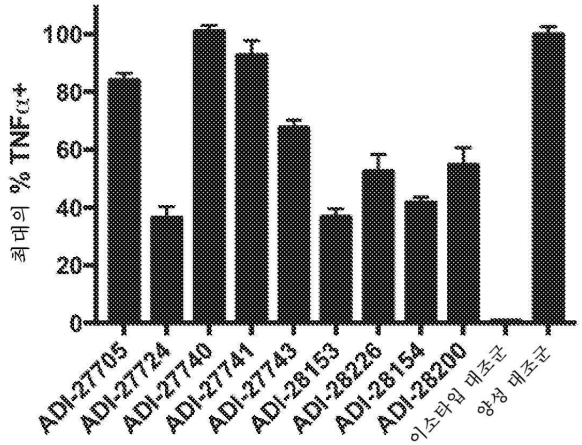
도면9


% NKG2D 억제
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

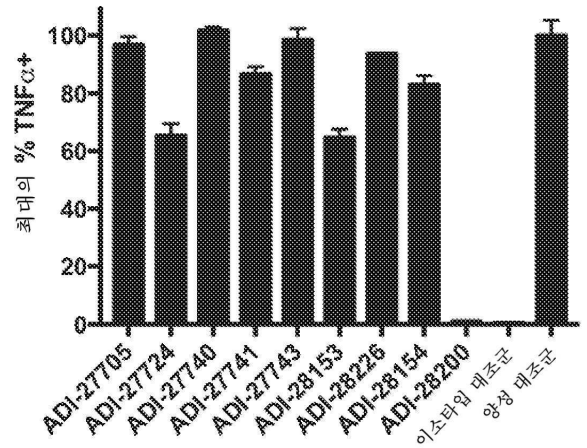
도면10


% mNKG2D 억제
log[X], nM
ADI-27705
ADI-27724
ADI-27740
ADI-27741
ADI-27743
ADI-28153
ADI-28226
ADI-28154
ADI-28200
이소타입 대조군
양성 대조군

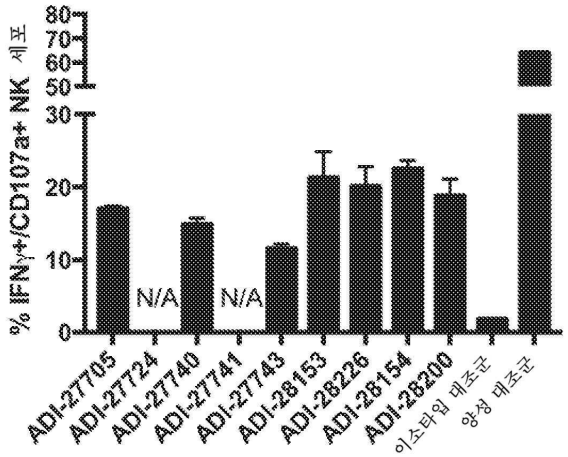
도면11



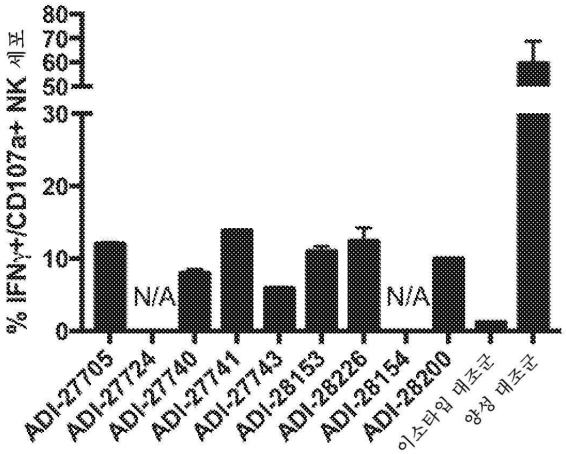
도면12



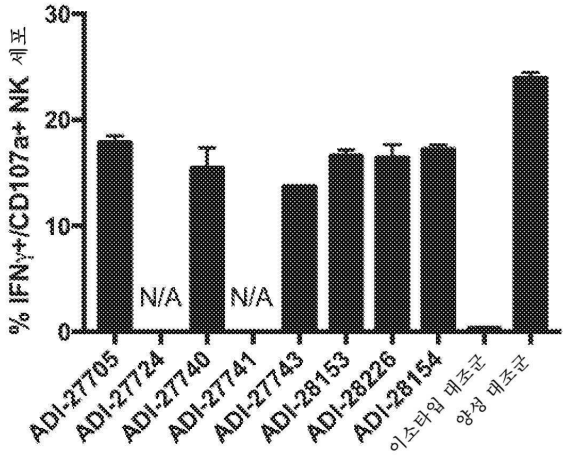
도면13



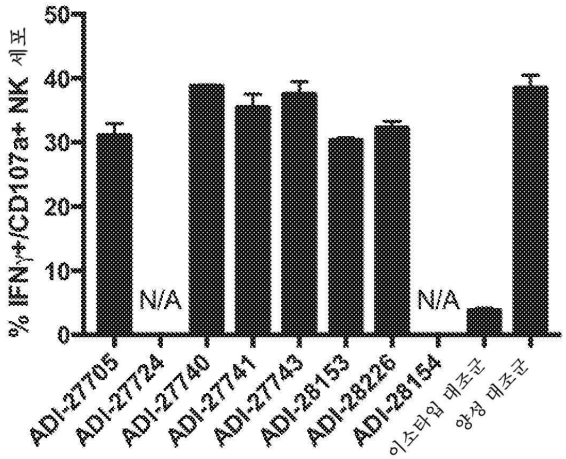
도면14



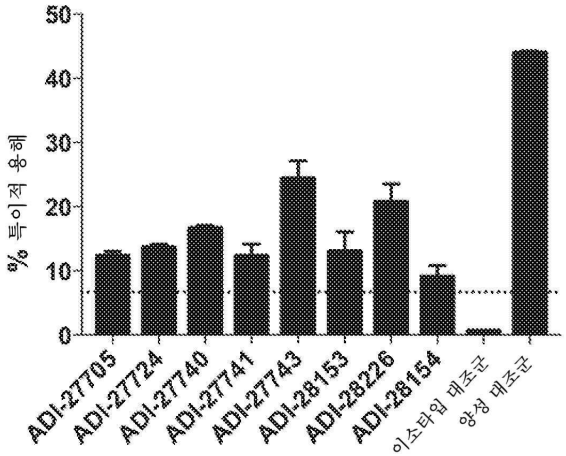
도면15



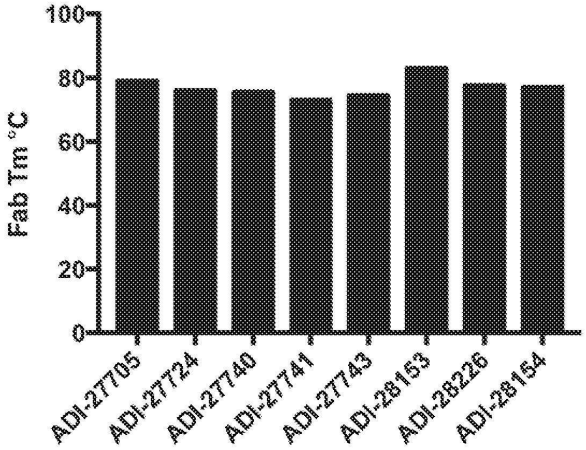
도면16



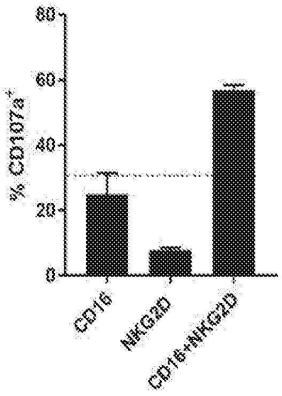
도면17



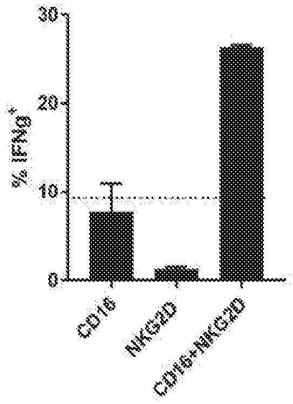
도면18



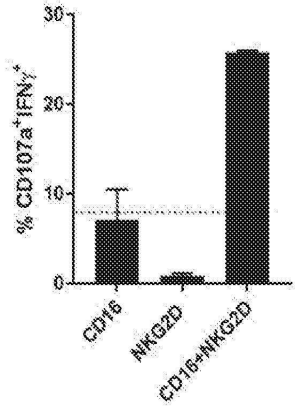
도면19a



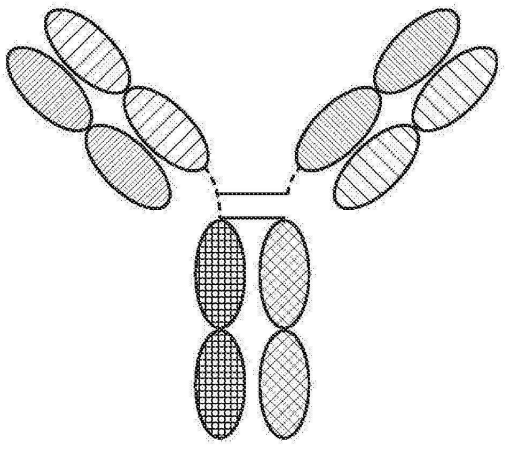
도면19b



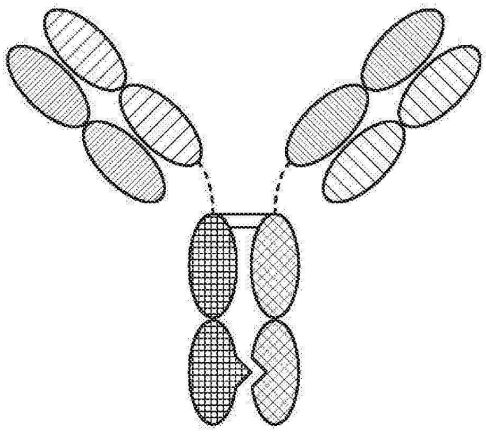
도면19c



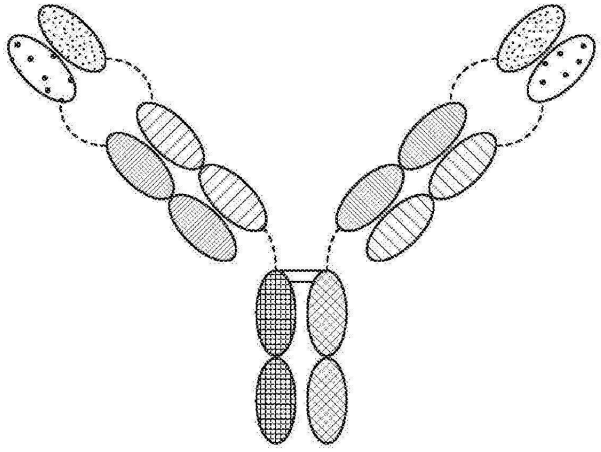
도면20



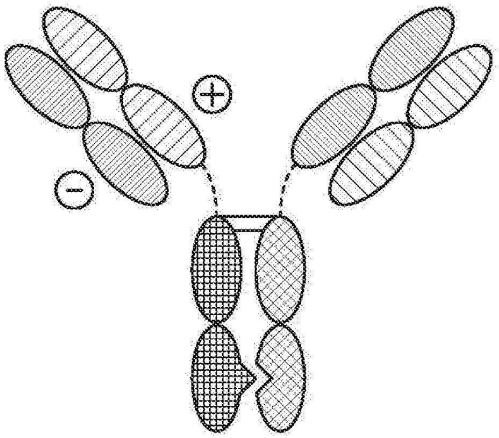
도면21



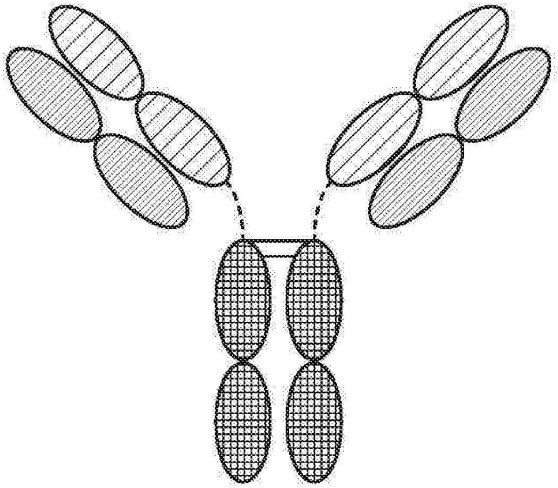
도면22



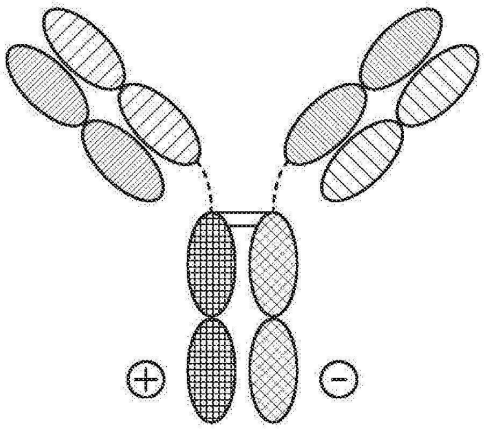
도면23



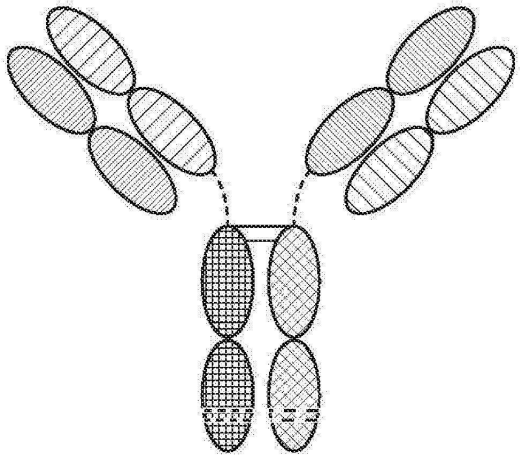
도면24



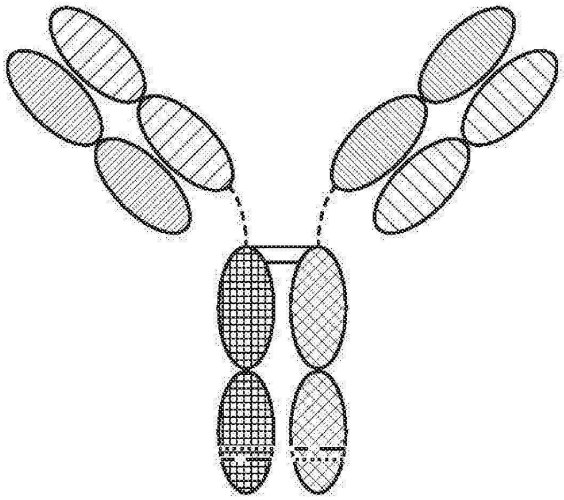
도면25



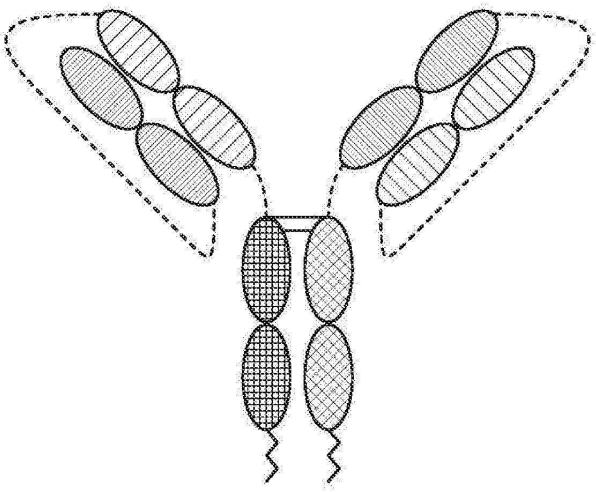
도면26



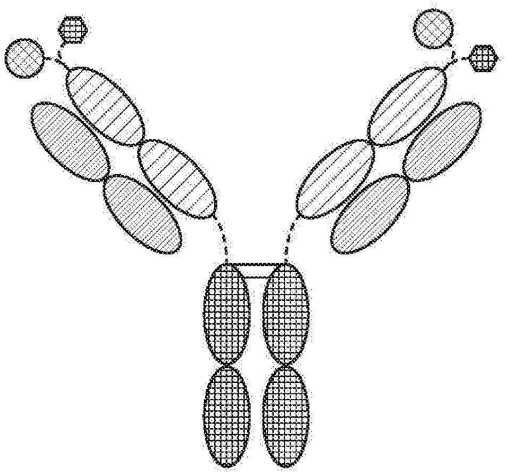
도면27



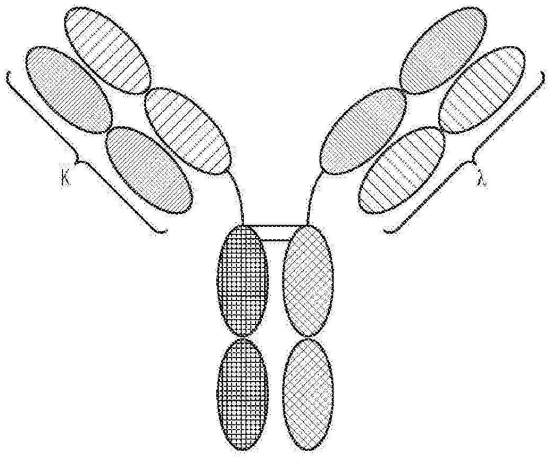
도면28



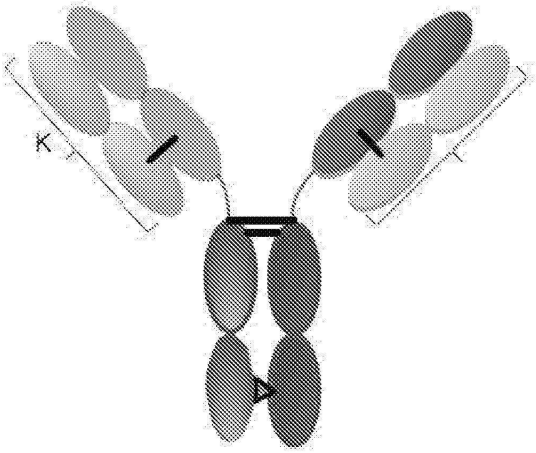
도면29



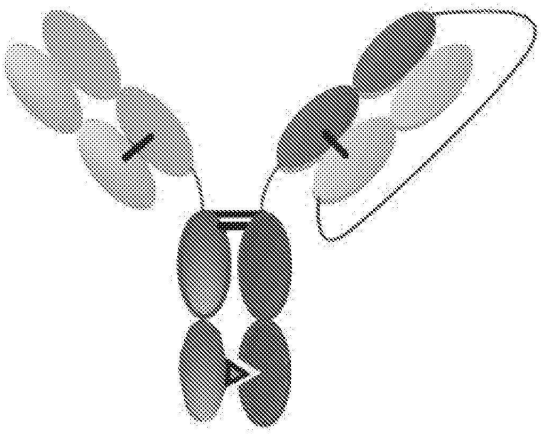
도면30a



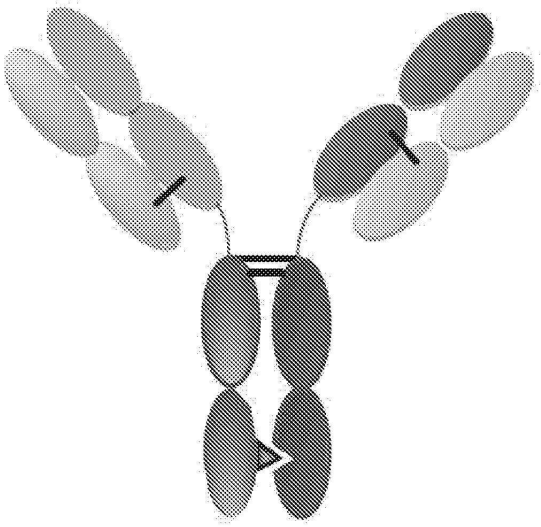
도면30b



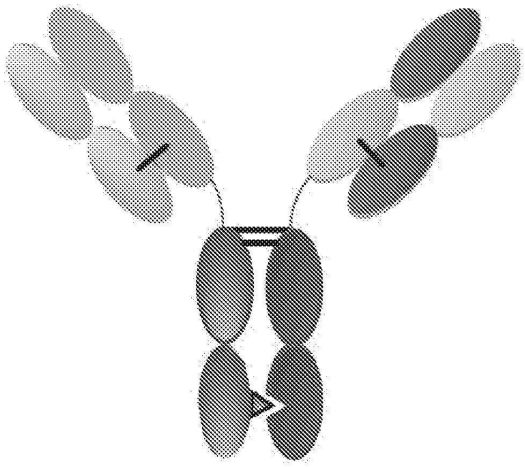
도면31



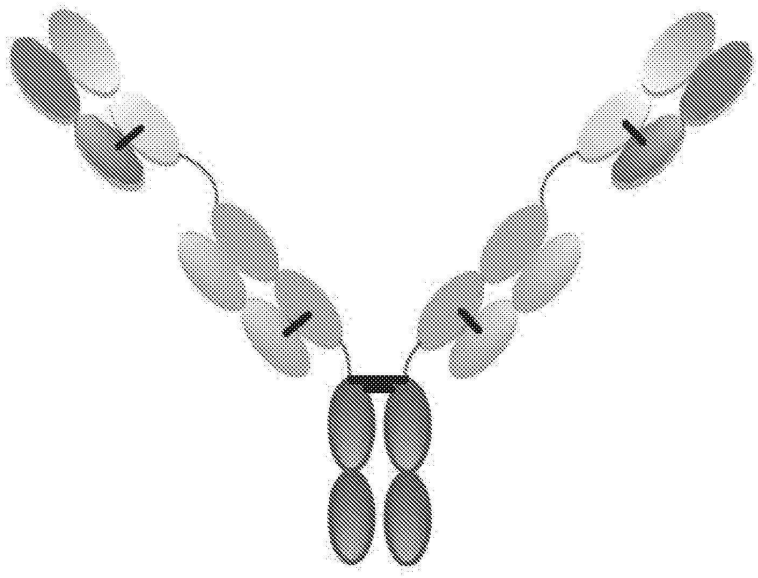
도면32



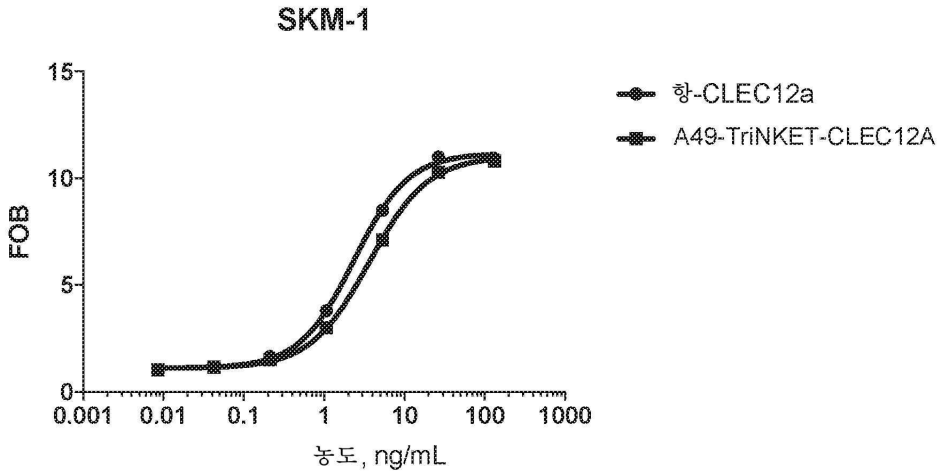
도면33



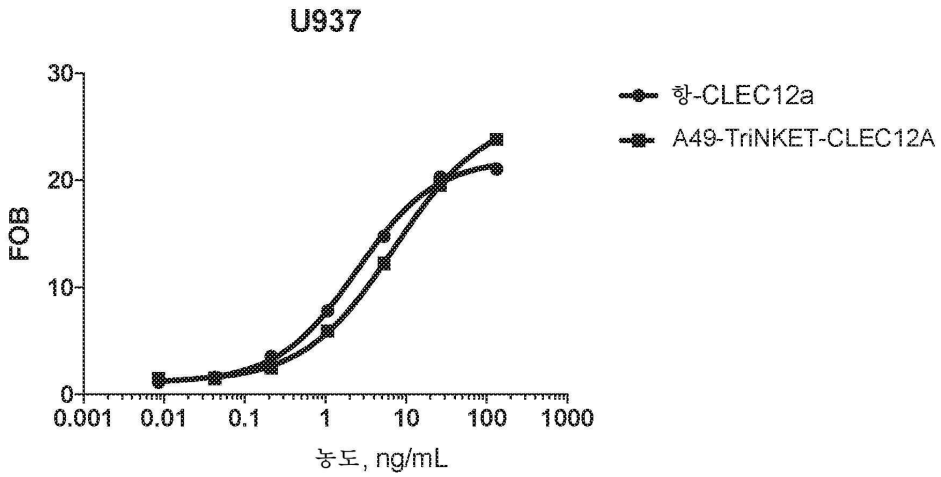
도면34



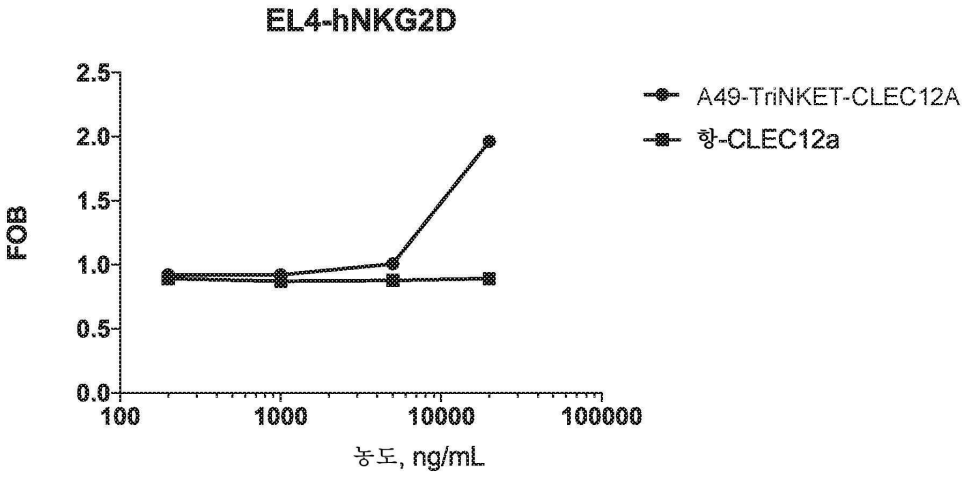
도면35



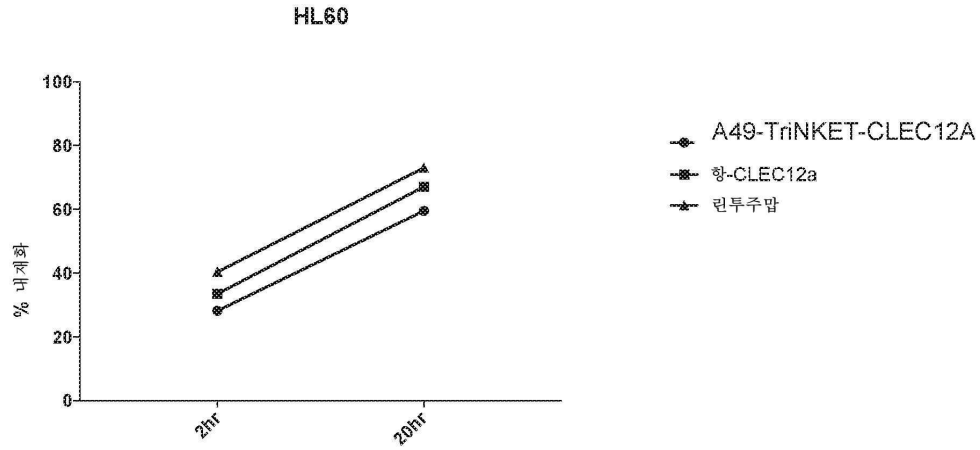
도면36



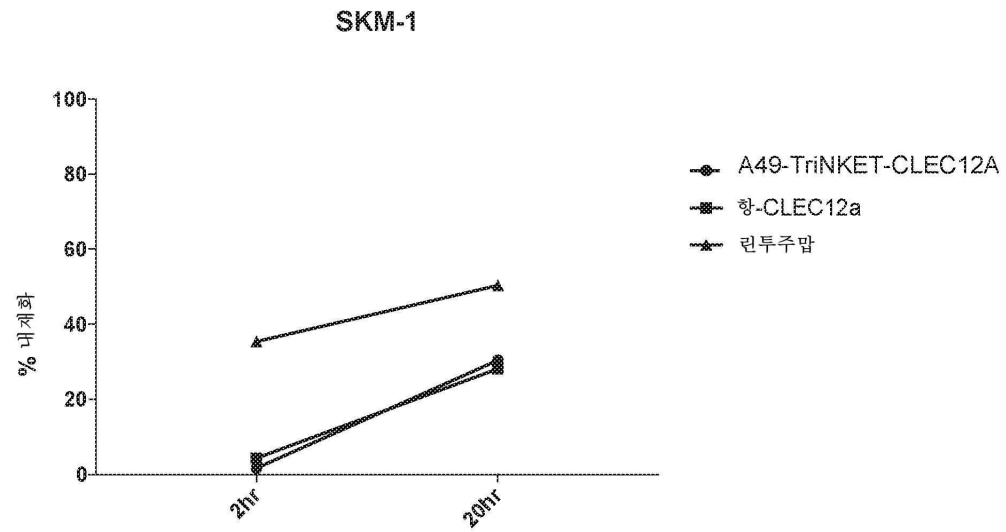
도면37



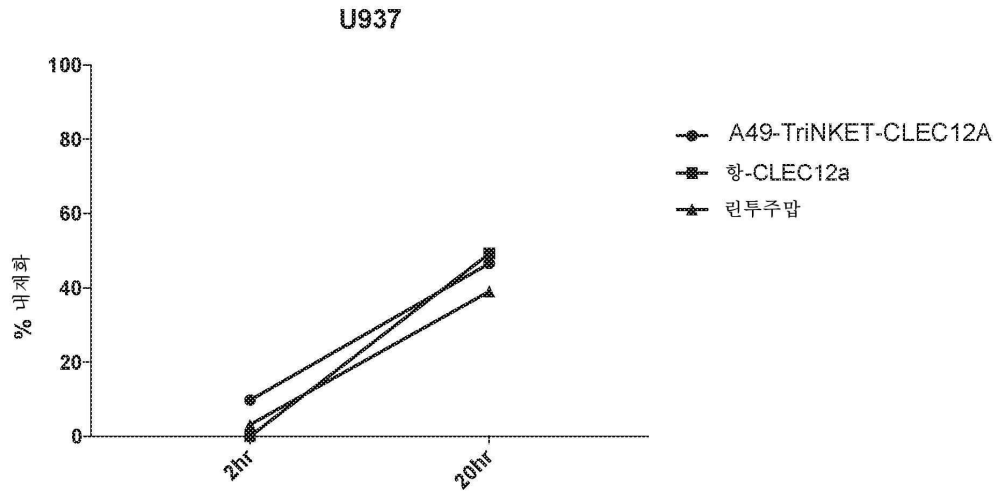
도면38



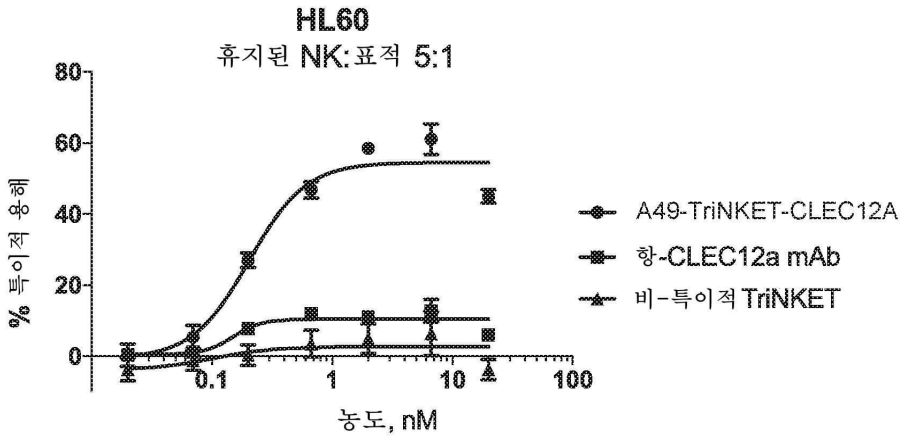
도면39



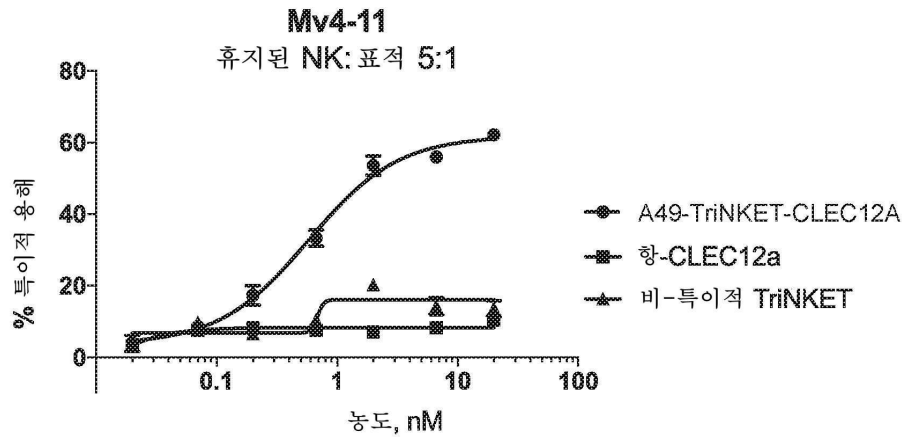
도면40



도면41



도면42



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> DRAGONFLY THERAPEUTICS, INC.

<120> PROTEINS BINDING NKG2D, CD16, AND C-TYPE LECTIN-LIKE MOLECULE-1 (CLL-1)

<130> DFY-041WO

<150> US 62/558,510

<151> 2017-09-14

<160> 123

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 3

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

<210> 4
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 4

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

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

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

<210> 5
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 6

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 7

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 8

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 8

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

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

<210> 9

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 9

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 13

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 14

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 14

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

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

<210> 15

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 15

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

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

65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 16

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 17

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 18

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 19

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 20

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 21

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 23

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 25

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 27

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 28

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

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

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

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

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

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

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

<210> 29

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 29

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 30

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 31

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 32

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 33

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 34

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

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

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

<210> 35

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 36

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 37

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 38

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 39
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 39
Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu

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

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

<210> 40
<211> 106
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 40

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

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

<210> 41

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 41

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

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 42

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

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

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 45

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

1 5 10 15

Asp Val

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 46

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

1 5 10 15

Ala

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 47

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 48

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Ile Thr

1 5

<210> 49

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 50
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 50
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asp Thr Trp Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 51
<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 51

Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5 10

<210> 52

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 52

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

1 5 10 15

<210> 53

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 53

Ala Arg Gly Ser Asp Arg Phe His Pro Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 54

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 55

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5

<210> 56

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 56

Gln Gln Phe Asp Thr Trp Pro Pro Thr
1 5

<210> 57

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 57

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 58

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<400> 58

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

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

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

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

50 55 60

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

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

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

<210> 59

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 59

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

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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Arg Lys Ala Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 60

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 61

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 61

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

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

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

<210> 62

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 62

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

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

20 25 30

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

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

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 63
Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His
1 5

<210> 64
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 64
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15
Gly

<210> 65
<211> 19
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 65

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

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 66

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 67

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 67

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 68

Gln Gln Tyr Asp Asp Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 69

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 69

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Thr Gly Glu Tyr Tyr Asp Thr Asp Asp His Gly Met Asp
100 105 110

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

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 70

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

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

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 71

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 71

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 72

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

1 5 10 15

Gly

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 73

Ala Arg Asp Thr Gly Glu Tyr Tyr Asp Thr Asp Asp His Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 75

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 76

Gln Gln Asp Asp Tyr Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 77

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 77

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

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

35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Val Ser Tyr Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 79
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 79
Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5
<210> 80
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 80
Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 81
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 81
Ala Lys Asp Gly Gly Tyr Tyr Asp Ser Gly Ala Gly Asp Tyr
1 5 10
<210> 82
<211> 11
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 82

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asp Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 83

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 84

Gln Gln Gly Val Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 85

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

<210> 86

<211> 107

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 86

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

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

<210> 87

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 87

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 88

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

1 5 10 15

Gly

<210> 89

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 89

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

1 5 10 15

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 90

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 91

<211> 7

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 91

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 92

Gln Gln Gly Val Ser Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 93

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

<210> 94

<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 94
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

<210> 95
<211> 9

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 95

Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 96

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 96

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

1 5 10 15

Gly

<210> 97

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 97

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

1 5 10 15

Asp Val

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 98

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 99

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 100

Gln Gln Ser Asp Asn Trp Pro Phe Thr

1 5

<210> 101

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 102

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 103

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Asn Trp Asp Asp Ala Phe Asn Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 104
<211> 108
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 104

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

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

20 25 30

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

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

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

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

85 90 95

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

100 105

<210> 105
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

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

<400> 105

Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser

1 5

<210> 106

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 106

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

1 5 10 15

<210> 107

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 107

Ala Arg Ala Arg Gly Pro Trp Ser Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 108

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Gly Gln Thr Phe Leu Leu Phe Asp Ser Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr

145 150 155 160

Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys

165 170 175

Asp Val Ala Met Ser Phe His Tyr Ile Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly

180 185 190

Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser

195 200 205

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

210 215 220

Thr Ala Thr Thr Leu Ile Leu Cys Cys Leu Leu Ile Ile Leu Pro Cys

225 230 235 240

Phe Ile Leu Pro Gly Ile

245

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 109

Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 110

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

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 111

Ala Arg Arg Gly Arg Lys Ala Ser Gly Ser Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 112

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 112

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

1 5 10 15

Thr

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 113

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 114

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 114

Gln Asn Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 115

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CLEC12A 4331 VH

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Gly Asp Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CLEC12A 4331 VH CDR1

<400> 116

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

1 5

<210> 117

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CLEC12A 4331 VH CDR2

<400> 117

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 118

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CLEC12A 4331 VH CDR3

<400> 118

Gly Asn Tyr Gly Asp Glu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 119

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct VL/012

<400> 119

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

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

<210> 120
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct VL/012 CDR1
<400> 120
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 121
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic Construct VL/012 CDR2
<400> 121
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 122
<211> 9
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct VL/012 CDR3

<400> 122

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 123

<211> 265

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Met Ser Glu Glu Val Thr Tyr Ala Asp Leu Gln Phe Gln Asn Ser Ser

1 5 10 15

Glu Met Glu Lys Ile Pro Glu Ile Gly Lys Phe Gly Glu Lys Ala Pro

20 25 30

Pro Ala Pro Ser His Val Trp Arg Pro Ala Ala Leu Phe Leu Thr Leu

35 40 45

Leu Cys Leu Leu Leu Leu Ile Gly Leu Gly Val Leu Ala Ser Met Phe

50 55 60

His Val Thr Leu Lys Ile Glu Met Lys Lys Met Asn Lys Leu Gln Asn

65 70 75 80

Ile Ser Glu Glu Leu Gln Arg Asn Ile Ser Leu Gln Leu Met Ser Asn

85 90 95

Met Asn Ile Ser Asn Lys Ile Arg Asn Leu Ser Thr Thr Leu Gln Thr

100 105 110

Ile Ala Thr Lys Leu Cys Arg Glu Leu Tyr Ser Lys Glu Gln Glu His

115 120 125

Lys Cys Lys Pro Cys Pro Arg Arg Trp Ile Trp His Lys Asp Ser Cys

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Ala Ala Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Ile Asn Asn Lys Asn Ala

165 170 175

Leu Glu Phe Ile Lys Ser Gln Ser Arg Ser Tyr Asp Tyr Trp Leu Gly
180 185 190
Leu Ser Pro Glu Glu Asp Ser Thr Arg Gly Met Arg Val Asp Asn Ile

195 200 205
Ile Asn Ser Ser Ala Trp Val Ile Arg Asn Ala Pro Asp Leu Asn Asn
210 215 220
Met Tyr Cys Gly Tyr Ile Asn Arg Leu Tyr Val Gln Tyr Tyr His Cys
225 230 235 240
Thr Tyr Lys Lys Arg Met Ile Cys Glu Lys Met Ala Asn Pro Val Gln
245 250 255
Leu Gly Ser Thr Tyr Phe Arg Glu Ala
260 265