

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2024-0046641
(43) 공개일자 2024년04월09일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/70532 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7010746(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2016년04월15일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2017-7032993
원출원일자(국제) 2016년04월15일
심사청구일자 2021년04월08일
- (85) 번역문제출일자 2024년03월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/027995
- (87) 국제공개번호 WO 2016/168771
국제공개일자 2016년10월20일
- (30) 우선권주장
62/149,437 2015년04월17일 미국(US)
62/218,534 2015년09월14일 미국(US)
- (71) 출원인
알파인 이문 사이언시즈, 인코포레이티드
미국 워싱턴 98102 시애틀 스위트 200 이스트 블레인 스트리트 188
- (72) 발명자
스완슨, 라이언
미국 워싱턴 98101 시애틀 스위트 1503 스튜어트 스트리트 600
코르나커, 마이클
미국 워싱턴 98101 시애틀 스위트 1503 스튜어트 스트리트 600
- (74) 대리인
박장원

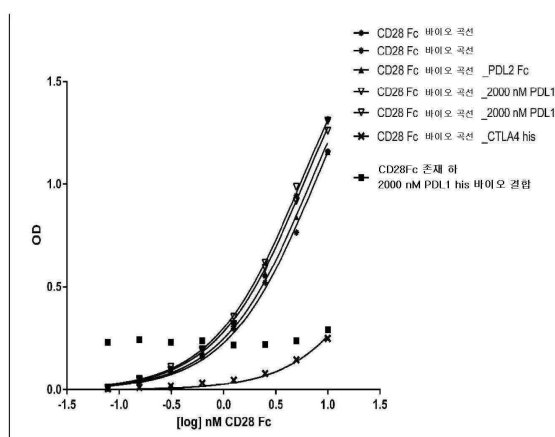
전체 청구항 수 : 총 136 항

(54) 발명의 명칭 조율가능한 친화성을 갖는 면역조절 단백질

(57) 요약

본 발명에 따라 면역조절 단백질 및 이러한 단백질을 인코딩하는 핵산이 제공된다. 면역조절 단백질은 다양한 면역학적 병태 및 종양 병태에 대해 치료적으로 이용될 수 있다. 이러한 단백질을 생산 및 사용하기 위한 조성물 및 방법도 제공된다.

대표도 - 도1a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/70521 (2013.01)

C07K 14/70596 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

야생형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는 적어도 하나의 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질로서, 여기서: 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에 비해 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대한 결합이 증가된 것이고; 및 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대해 비-경쟁적으로 특이적으로 결합하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포의 표면에서 발현된 세포 표면 분자종들인 것인 면역조절 단백질.

청구항 3

청구항 2에 있어서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현되는 것인 면역조절 단백질.

청구항 4

청구항 2 또는 청구항 3에 있어서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 하나이고 각각의 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현되는 것인 면역조절 단백질

청구항 5

청구항 2-4 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구인 것인 면역조절 단백질.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포인 것인 면역조절 단백질.

청구항 7

청구항 5-6 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 8

청구항 7에 있어서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 증가시킬 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 9

청구항 7에 있어서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 감소시킬 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 10

청구항 2-9 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포인 것인 면역조절 단백질.

청구항 11

청구항 2-10 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포는 인간 세포인 것인 면역조절 단백질.

청구항 12

청구항 4-11 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들과 특이적으로 결합할 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 13

청구항 1-12 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리, 유사 골수 세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리, 부티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리, 주조직적합 복합체 (MHC) 패밀리, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리, 폴리오바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리 멤버로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 14

청구항 1-13 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 15

청구항 1-14 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 인간 IgSF 멤버인 것인 면역조절 단백질.

청구항 16

청구항 1-15 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인, IgC1 도메인, IgC2 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편인 것인 면역조절 단백질.

청구항 17

청구항 1-16 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성-변형된 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인, 친화성 변형된 IgC1 도메인 또는 친화성 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편인 것인 면역조절 단백질.

청구항 18

청구항 1-17 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 동일한 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 상이한 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 20

청구항 19에 있어서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 상이한 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리 멤버들로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 22

청구항 1-17 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인을 오직 한 개 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 23

청구항 1-22 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성-변형된 IgSF는 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 24

청구항 23에 있어서, 면역조절 단백질은 제2 친화성-변형된 IgSF를 추가로 포함하되, 상기 제2 친화성-변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 25

청구항 1-24 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 멤버인 것인 면역조절 단백질.

청구항 26

청구항 1-25 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86 또는 ICOSLG의 도메인인 것인 면역조절 단백질.

청구항 27

청구항 1-26 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80의 도메인인 것인 면역조절 단백질.

청구항 28

야생형 CD80 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는 적어도 하나의 친화성 변형된 CD80 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질로서, 여기서 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인은 야생형 CD80 IgSF 도메인에 비해 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대하여 증가된 결합을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 29

청구항 27 또는 청구항 28에 있어서, 동족 결합 파트너들은 CD28 및 PD-L1인 것인 면역조절 단백질.

청구항 30

청구항 27-29 중 어느 하나의 항에 있어서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인이고 및/또는 친화성 변형된 CD80 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인인 것인 면역조절 단백질.

청구항 31

청구항 27-30 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성-변형된 도메인은 SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 CD80 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 32

청구항 1-31 중 어느 하나의 항에 있어서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 적어도 1개 및 20개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 33

청구항 1-32 중 어느 하나의 항에 있어서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 1개 이상 10개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 34

청구항 1-33 중 어느 하나의 항에 있어서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 1개 이상 5개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 35

청구항 1-34 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들 각각에 대해 그의 야생형 IgSF 도메인이 갖는 결합 친화성의 적어도 120%를 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 36

청구항 1-35 중 어느 하나의 항에 있어서, 비-친화성 변형된 IgSF 도메인을 더 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 37

청구항 1-36 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 가용성인 것인 면역조절 단백질.

청구항 38

청구항 1-37 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 막통과 도메인 또는 세포질 도메인을 결여하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 39

청구항 1-38 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 세포외 도메인(extracellular domain: ECD) 또는 그의 특이적인 결합 단편만을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 40

청구항 1-39 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된 것인 것인 면역조절 단백질.

청구항 41

청구항 1-40 중 어느 하나의 항에 있어서, 멀티머화 도메인에 연결된 것인 면역조절 단백질.

청구항 42

청구항 1-41 중 어느 하나의 항에 있어서, Fc 도메인 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된 것인 면역조절 단백질.

청구항 43

청구항 42에 있어서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체인 것인 면역조절 단백질.

청구항 44

청구항 39-41 중 어느 하나의 항에 있어서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 45

청구항 42-44 중 어느 하나의 항에 있어서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 46

청구항 38-41 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 링커를 통해 간접적으로 연결되는 것인 면역조절 단백질.

청구항 47

청구항 41-46 중 어느 하나의 항에 있어서, 다이머인 것인 면역조절 단백질.

청구항 48

청구항 1-47 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합되어 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 49

적어도 두 개의 비-면역글로불린 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인들을 포함하는 면역조절 단백질로서, 여기서: 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 친화성 변형되어 그의 동족 결합 파트너에 대해 변경된 결합을 나타내고; 적어도 두 개의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인들 각각은 독립적으로 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 50

청구항 49에 있어서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 IgSF 도메인들 각각은 친화성-변형된 IgSF 도메인들이고, 여기서 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1 야생형-유형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 51

청구항 50에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1 야생형 IgSF 도메인에 비해 그의 동족 결합 파트너(들) 중 적어도 하나에 대해 변경된 결합을 나타내고; 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에 비해 그의 동족 결합 파트너(들) 중 적어도 하나에 대해 변경된 결합을 나타내는 것인 면역조절 단백질.

청구항 52

청구항 49-51중 어느 하나의 항에 있어서, 상이한 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포의 표면에서 발현되는 세포 표면 분자종들인 것인 면역조절 단백질.

청구항 53

청구항 52에 있어서, 상이한 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현되는 것인 면역조절 단백질.

청구항 54

청구항 52 또는 청구항 53에 있어서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 하나이고 상이한 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현되는 것인 면역조절 단백질.

청구항 55

청구항 52-54 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구인 것인 면역조절 단백질.

청구항 56

청구항 55에 있어서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포인 것인 면역조절 단백질.

청구항 57

청구항 56 또는 청구항 56에 있어서, 세포에 대한 면역조절 단백질의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절하

는 것인 면역조절 단백질.

청구항 58

청구항 57에 있어서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 증가시킬 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 59

청구항 57에 있어서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 감소시킬 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 60

청구항 52-59 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포인 것인 면역조절 단백질.

청구항 61

청구항 52-60 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포는 인간 세포들인 것인 면역조절 단백질.

청구항 62

청구항 54-61 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들에 특이적으로 결합할 수 있는 것인 면역조절 단백질.

청구항 63

청구항 49-62 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인들 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 64

청구항 63에 있어서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리 멤버들로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 65

청구항 49-64 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들은 비-야생형 조합인 것인 면역조절 단백질.

청구항 66

청구항 49-65 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리, 부티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리, 구조적적합 복합체 (MHC) 패밀리, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리, 폴리오바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리, 천연 세포 독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 67

청구항 49-66 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30으로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 68

청구항 49-67 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 69

청구항 49-68 중 어느 하나의 항에 있어서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 B7 패밀리의 멤버로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 70

청구항 69에 있어서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 CD80, CD86 또는 ICOSLG로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 71

청구항 49-68 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 한 멤버로부터 유래하고 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인의 다른 하나는 또 다른 IgSF 패밀리로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 72

청구항 49-68 및 71 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 ICOSLG 및 Nkp30으로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 73

청구항 49-68 및 71 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 CD80 및 Nkp30으로부터 유래하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 74

청구항 49-73 중 어느 하나의 항에 있어서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 인간 IgSF 멤버인 것인 면역조절 단백질.

청구항 75

청구항 49-74 중 어느 하나의 항에 있어서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 IgV 도메인, 및 IgC1 도메인, IgC2 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편인 것인 면역조절 단백질.

청구항 76

청구항 49-75 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인 각각은 개별적으로 변형된 IgV 도메인, 변형된 IgC1 도메인 또는 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편인 것인 면역조절 단백질.

청구항 77

청구항 49-76 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인 중 적어도 하나는 변형된 IgV 도메인인 것인 면역조절 단백질.

청구항 78

청구항 49-77 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 20개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 79

청구항 49-78 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린

린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 10개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 80

청구항 49-79 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 5개 이하의 아미노산 치환을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 81

청구항 49-80 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%의 결합 친화성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 82

청구항 49-81 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 83

청구항 49-80 및 82 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는 것인 면역조절 단백질.

청구항 84

청구항 49-83 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 가용성인 것인 면역조절 단백질.

청구항 85

청구항 49-84 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐쇄화된 것인 면역조절 단백질.

청구항 86

청구항 49-85 중 어느 하나의 항에 있어서, 멀티머화 도메인에 연결된 것인 면역조절 단백질.

청구항 87

청구항 49-86 중 어느 하나의 항에 있어서, Fc 도메인 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된 것인 면역조절 단백질.

청구항 88

청구항 87에 있어서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체인 것인 면역조절 단백질.

청구항 89

청구항 87 또는 청구항 88에 있어서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 90

청구항 87-89 중 어느 하나의 항에 있어서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 것과 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 91

청구항 86-90 중 어느 하나의 항에 있어서, 변이체 CD80 폴리펩타이드는 링커를 통해 간접적으로 연결되는 것인 면역조절 단백질.

청구항 92

청구항 86-91 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 다이머인 것인 면역조절 단백질.

청구항 93

청구항 49-92 중 어느 하나의 항에 있어서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인과 동일 또는 상이한 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인을 추가로 포함하는 것인 면역조절 단백질.

청구항 94

청구항 93에 있어서, 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgSF 도메인인 것인 면역조절 단백질.

청구항 95

청구항 49-94 중 어느 하나의 항에 있어서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합된 것인 것인 면역조절 단백질.

청구항 96

청구항 1-95 중 어느 하나의 항에 기재된 면역조절 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자.

청구항 97

청구항 96에 있어서, 합성 핵산인 것인 핵산.

청구항 98

청구항 96 또는 청구항 97에 있어서, cDNA인 것인 핵산,

청구항 99

청구항 96-98 중 어느 하나의 항에 기재된 핵산 분자를 포함하는 벡터..

청구항 100

청구항 99에 있어서, 발현 벡터인 것인 벡터.

청구항 101

청구항 99 또는 청구항 100의 벡터를 포함하는 세포.

청구항 102

청구항 101에 있어서, 진핵세포 또는 원핵세포인 것인 세포.

청구항 103

청구항 96-98 중 어느 하나의 항에 기재된 핵산 분자 또는 청구항 99 또는 청구항 100의 벡터를 세포에서 단백질이 발현되는 조건 하에 숙주 세포 내로 도입시키는 것을 포함하는, 면역조절 단백질의 생산 방법.

청구항 104

청구항 103에 있어서, 세포로부터 면역조절 단백질을 분리 또는 정제하는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 105

청구항 1-95 중 어느 하나의 항에 기재된 면역조절 단백질을 포함하는, 의약 조성물.

청구항 106

청구항 105에 있어서, 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함하는 의약 조성물.

청구항 107

청구항 105 또는 청구항 106에 있어서, 멸균된 것인 것인 의약 조성물.

청구항 108

청구항 105-107 중 어느 하나의 항에 기재된 의약 조성물을 바이알 내에 포함하는 제조 물품.

청구항 109

청구항 108에 있어서, 바이알은 밀봉된 것인 것인 제조 물품.

청구항 110

청구항 105-107 중 어느 하나의 항에 기재된 의약 조성물 및 사용 지침을 포함하는 키트.

청구항 111

청구항 108 또는 청구항 109에 기재된 제조 물품 및 사용 지침을 포함하는 키트.

청구항 112

청구항 1-95 중 어느 하나의 항에 기재된 면역조절 단백질의 치료적 유효량을 대상자에게 투여하는 것을 포함하는, 대상자에 있어서 면역 반응을 조절하는 방법.

청구항 113

청구항 112에 있어서, 면역 반응의 조절은 대상자의 질환 또는 병태를 치료하는 것인 방법.

청구항 114

청구항 112 또는 청구항 113에 있어서, 면역 반응은 증가되는 것인 방법.

청구항 115

청구항 114에 있어서, 질환 또는 병태는 종양 또는 암인 것인 방법.

청구항 116

청구항 114 또는 청구항 115에 있어서, 질환 또는 병태는 흑색종, 폐암, 방광암 또는 혈액학적 악성종양으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 117

청구항 112 또는 청구항 113에 있어서, 면역 반응은 감소되는 것인 방법.

청구항 118

청구항 117에 있어서, 질환 또는 병태는 염증 질환 또는 병태인 것인 방법.

청구항 119

청구항 117 또는 청구항 118에 있어서, 질환 또는 병태는 크론씨병, 궤양성 결장염, 다발경화증, 천식, 류마티스성 관절염, 또는 건선으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 120

a) 적어도 하나의 비-면역글로불린 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하는 변형된 단백질을, 상기 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너와 결합할 수 있는 조건 하에서

적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 단계;

b) 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 단백질에 비해, 2개의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대하여 증가된 결합능을 갖는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 단계; 및

c) 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 선택함으로써, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 단계

를 포함하는, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 방법.

청구항 121

청구항 120에 있어서, 단계 b)는 야생형 도메인을 포함하는 단백질에 비해 적어도 2개의 동족 결합 파트너들 각각에 대한 결합이 증가된 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 것을 포함하는 방법.

청구항 122

청구항 120 또는 청구항 121에 있어서, 단계 a)에 앞서, 야생형 IgSF 도메인에 아미노산 치환을 하나 이상 도입 시킴으로써, 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 생성하는 방법.

청구항 123

청구항 120-122 중 어느 하나의 항에 있어서, 변형된 단백질은 적어도 2개의 변형된 IgSF 도메인들 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 포함하되, 여기서 제1 IgSF 도메인은 제1 야생형-유형의 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 방법.

청구항 124

청구항 123에 있어서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인 각각은 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 특이적으로 결합하는 것인 방법.

청구항 125

청구항 120-124 중 어느 하나의 항에 있어서, 변형된 단백질을 선택하기 전에, 상기 방법은 단계 (b)에서 동정된 두 개 이상의 변형된 IgSF 도메인들 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 조합하여 두 개 이상의 상이한 변형된 IgSF 도메인들을 함유하는 단백질들을 생성하는 것을 더 포함하는 방법.

청구항 126

청구항 120-125 중 어느 하나의 항에 있어서, 친화성 변형된 단백질은 두 개의 동족 결합 파트너들과 동시에 결합할 수 있는 것인 방법.

청구항 127

청구항 120-126 중 어느 하나의 항에 있어서, 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포 표면 상에 발현되는 세포 표면 분자종들인 것인 방법.

청구항 128

청구항 127에 있어서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현되는 것인 방법.

청구항 129

청구항 127 또는 청구항 128에 있어서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 하나이고, 각각의 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 상기 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현되는 것인 방법.

청구항 130

청구항 127-129 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구인 것인 방법.

청구항 131

청구항 127-130 중 어느 하나의 항에 있어서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포인 것인 방법.

청구항 132

청구항 127-131 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포인 것인 방법.

청구항 133

청구항 127-132 중 어느 하나의 항에 있어서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 항원-제시 세포인 것인 방법.

청구항 134

청구항 127-133 중 어느 하나의 항에 있어서, 두 개 이상의 동족 결합 파트너들은 독립적으로 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30로부터 선택된 IgSF 멤버의 리간드인 것인 방법.

청구항 135

청구항 127-134 중 어느 하나의 항에 있어서, 두 개 이상의 동족 결합 파트너들은 독립적으로 B7 패밀리 멤버의 리간드인 것인 방법.

청구항 136

청구항 127-134 중 어느 하나의 항에 있어서, 두 개 이상의 동족 결합 파트너들은 CD28, CTLA-4, ICOS 또는 PD-L1 중 두 개 이상으로부터 선택되는 것인 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원의 상호 참조

[0002]

[1] 이 출원은 2015. 09. 14.자 출원된 "조율가능한 친화성을 갖는 면역조절 단백질"는 제하의 미국 가특허출원 No. 62/218,534 및 2015. 04. 17.자 출원된 "조율가능한 친화성을 갖는 면역조절 단백질"는 제하의 미국 가특허출원 No. 62/149,437에 기초한 우선권 주장 출원으로서, 상기 각 출원의 내용은 그 전체가 본 발명에 참조 병합되었다.

[0003]

서열목록의 참조 병합

[0004]

[2] 본 출원은 전자문서 형태의 서열목록과 함께 출원되었다. 서열목록은 2016. 04. 15.자 생성된 377 킬로바이트 크기의 파일명 761612000140SEQLIST.TXT으로서 제공되었다. 전자문서 형태의 서열목록 정보는 그 내용 전체가 본 발명에 참조 병합되었다.

[0005]

분야

[0006]

[3] 본 발명은 암 및 면역학적 질환의 치료시 면역 반응을 조절하기 위한 치료용 단백질에 관한 것이다.

배경 기술

[0007]

배경

[0008]

[4] 항원-제시 세포들(APCs) 또는 표적 세포들 및 림프구들에 의하여 형성된 그리고 이들 사이에서 형성되는 면역학적 시냅스 (IS: immunological synapse)에서 일어나는 과정에서 개체에 의한 면역반응의 조절에 대한 의학 적 관심이 증가하고 있다. 현재, 면역반응을 향상 또는 억압하는데 이용되는 생물학은 일반적으로 면역글로불린 (예컨대, 항-PD-1 mAbs) 또는 가용성 수용체들 (예컨대, Fc-CTLA4)로 한정되어 왔다. 가용성 수용체들은 여러가지 단점을 갖는다. 가용성 수용체들은 단백질들 간의 상호작용을 반대하는데 유용한 반면, 종종 이러한 상호작

용을 찬성하는 능력이 결여되어 있다. 항체들은 이 점에서 덜 제한적인 것으로 입증되어 왔고, 기술분야에는 길항적 항체와 작용적 항체 양자 모두의 예가 알려져 있다. 그럼에도 불구하고, 가용성 수용체와 항체는 두 가지 모두 IS에서 기능하는데 없어서는 안될 중요한 속성이 결여되어 있다. 기계적 관점에서, IS의 세포 표면 단백질들은 이들이 결합하는 단일 단백질과 복수 단백질 표지 간의 배위된 그리고 종종 동시적인 상호반응에 관여할 수 있다 IS 상호반응은 2개의 세포들 간의 정선과 밀접히 연관되어 있고, 이 구조 내의 단일 단백질은 동일 세포(시스) 상의 단백질 뿐만 아니라 관련 세포(트랜스) 상의 단백질 두가지 모두와, 그것도 동시에 상호반응할 수 있다. 따라서, 면역 반응의 조절을 위한 개선된 분자가 요구되고 있다. 본 발명에 따라 이러한 요구사항을 만족하는 구체예들이 제공된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 발명의 개요

[5] 본 발명에 따라 면역학적 반응에 관여하는 면역 단백질 리간드들인 결합 파트너에 대해 변경된(altered) 결합 친화성을 나타내는 면역조절 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 제공된 면역조절 단백질은 면역 단백질 리간드의 활성을 예컨대 증강 또는 저감시키는 것과 같이 조절함으로써, 면역학적 반응을 조절할 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 면역 단백질 리간드들을 발현하는 세포를, 제공된 면역 조절 단백질과 접촉시킴으로써, 예컨대 면역 반응의 조절에 의해 치료가능한 질환 또는 병태를 면역치료적으로 처리하는 것과 같은, 면역반응을 조절하는 방법 및 용도 역시도 제공된다.

과제의 해결 수단

[6] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 야생형 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는, 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 적어도 한 개 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 여기서: 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에 비해 적어도 2개의 동족(cognate) 결합 파트너들에 대한 결합능이 증가된 것이고; 및 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 2개의 동족 결합 파트너와 비경쟁적으로 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포 표면에서 발현되는 세포 표면 분자종들(molecular species)이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 하나이고, 각각의 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 적어도 하나에서 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포 중 적어도 하나는 림프구이다. 일부 구체예에서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절한다.

[7] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포이다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 인간 세포이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들에 특이적으로 결합할 수 있다.

[8] 전술한 면역조절 단백질을 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리, 부티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리, 주조직적합 복합체 (MHC) 패밀리, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리, 폴리오마바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리 멤버로부터 유래한다. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30으로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 인간 IgSF 멤버이다.

[9] 전술한 면역조절 단백질을 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인, IgC1

도메인, IgC2 도메인 또는 이들의 특이적인 결합 단편이다. 일부 구체예에서, 친화성-변형된 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인, 친화성 변형된 IgC1 도메인 또는 친화성 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 그의 특이적인 결합 단편이다.

- [0015] [10] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 적어도 2개 포함한다. 일부 구체예에서, 각각의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 상이한 동족 결합 파트너에 결합하는데, 여기서 상기 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 2개의 상이한 동족 결합 파트너와 비경쟁적으로 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 2개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 동일한 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 상이한 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 상기 적어도 2개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인들에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리 멤버들로부터 유래한다.
- [0016] [11] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인을 오직 1개 포함한다.
- [0017] [12] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 친화성-변형된 IgSF는 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 포함한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 제2의 친화성-변형된 IgSF를 추가로 포함하되, 상기 제2의 친화성-변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 포함하는 것이다.
- [0018] [13] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 멤버이다. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86 또는 ICOSLG의 도메인이다. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80의 도메인이다.
- [0019] [14] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 야생형 CD80 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는, 친화성 변형된 CD80 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 적어도 한 개 포함하는 면역조절 단백질이 제공되되, 여기서 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인은 야생형 CD80 IgSF 도메인에 비해, 적어도 2개의 동족 결합 파트너에 대한 결합능이 증가된 것이다.
- [0020] [15] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 동족 결합 파트너들은 CD28 및 PD-L1이다. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인이고 및/또는 친화성 변형된 CD80 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인이다. 일부 구체예에서, 친화성-변형된 SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 CD80 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0021] [16] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 1개 이상 20개 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 1개 이상 10개 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 1개 이상 5개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0022] [17] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 야생형 IgSF 도메인이 적어도 2개의 동족 결합 파트너 각각에 대해 갖는 결합 친화성의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0023] [18] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 비-친화성 변형된 IgSF 도메인을 추가로 포함한다.
- [0024] [19] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 가용성이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 막통과(transmembrane) 도메인 또는 세포질(cytoplasmic) 도메인을 결여한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 세포외 도메인만을 포함하거나 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편만을 포함한다.
- [0025] [20] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 pegylation(pegylated)된 것이다.

- [0026] [21] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 멀티머화 도메인에 연결된다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 Fc 도메인에 연결되거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체이다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것인 비변형 Fc 도메인과 비교시 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예에서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0027] [22] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 링커를 통해 간접적으로 연결된다.
- [0028] [23] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 다이머이다.
- [0029] [24] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막(liposomal membrane)에 부착되어 있다.
- [0030] [25] 본 발명에 따라 비-면역글로불린 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 적어도 2개 포함하는 면역조절 단백질 역시도 제공되는데, 여기서 상기 도메인들 중 적어도 하나는 친화성 변형된 IgSF 도메인이고 상기 적어도 2개의 비-면역글로불린 IgSF 도메인들 각각은 독립적으로 적어도 하나의 상이한 결합 파트너에 결합된다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 비-면역글로불린 IgSF 도메인들은 상이한 결합 파트너들과 비경쟁적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 제1의 야생형 또는 변형되지 않은(unmodified) IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 다른 하나의 IgSF 도메인은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인이다. 일부 구체예에서, 다른 하나의 IgSF 도메인 역시도 친화성 변형된 IgSF 도메인이다.
- [0031] [26] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 2개의 친화성 변형된 비-면역글로불린 IgSF 도메인들 (제1의 친화성 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 친화성 변형된 IgSF 도메인)을 함유하되, 여기서 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1의 야생형-유형의 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하며, 여기서 제1 및 제2의 면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 비-면역글로불린 IgSF 도메인들은 상이한 결합 파트너에 대해 비-경쟁적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 친화성-변형되어 그의 동족 결합 파트너에 대해 변경된 결합능을 나타낸다. 그러므로, 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인들은 친화성-변형된 IgSF 도메인들이다. 일부 구체예에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1 야생형 IgSF 도메인과 비교시 적어도 하나의 그의 동족 결합 파트너(들)에 대해 변경된 결합능을 나타내고; 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인과 비교시 적어도 하나의 그의 동족 결합 파트너(들)에 대해 변경된 결합능을 나타낸다. 일부 구체예에서, 변경된 결합능은 독립적으로 증가 또는 감소된 것이다.
- [0032] [27] 일부 구체예에서, 상이한 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포의 표면에서 발현되는 세포 표면 분자종들이다. 일부 구체예에서, 상이한 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 하나이고 상이한 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 적어도 하나에서 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구이다. 일부 구체예에서, 림프구는NK 세포 또는 T 세포이다. 일부 구체예에서, 세포에 대한 면역조절 단백질의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질과 비교시 면역학적 활성을 증가시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질과 비교시 면역학적 활성을 감소시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포이다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 인간 세포이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들과 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0033] [28] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인들에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리의 멤버들로부터 유래한다. 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들은 비-야생형 조합이다. 일부 구체예에서, 각각의 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인

은 개별적으로 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리를, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리를, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리를, 시알산 결합 Ig-유사 력틴 (SIGLEC) 패밀리를, 부티로필린 패밀리를, B7 패밀리를, CD28 패밀리를, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리를, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리를, 구조적 적합 복합체 (MHC) 패밀리를, 시그널링 립프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리를, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넵틴 (Nec) 패밀리를, 넵틴-유사 (NECL) 패밀리를, 폴리오마바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리를, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리를, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리를 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로 부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리를 멤버로부터 유래한다. 일부 구체예에서, 각각의 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래한다.

- [0034] [29] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 각각의 제1의 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 변형된 IgSF 도메인은 개별적으로 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0035] [30] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 B7 패밀리의 멤버이다. 일부 구체예에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 CD80, CD86 또는 ICOSLG로부터 유래한다. 일부 구체예에서, 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 멤버로부터 유래하고 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인의 다른 하나는 또 다른 IgSF 패밀리로 부터 유래한다.
- [0036] [31] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 ICOSLG 및 Nkp30으로부터 유래한다.
- [0037] [32] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 CD80 및 Nkp30 으로부터 유래한다.
- [0038] [33] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 인간 IgSF 멤버로부터 유래한다.
- [0039] [34] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 IgV 도메인, 및 IgC1 도메인, IgC2 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편이다. 일부 구체예에서, 각각의 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인은 개별적으로 변형된 IgV 도메인, 변형된 IgC1 도메인 또는 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편이다. 일부 구체예에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인 중 적어도 하나는 변형된 IgV 도메인이다. 일부 구체예에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1 내지 20개 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1 내지 10개 이하의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1 내지 5개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0040] [35] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너에 대해 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%의 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너에 대해 야생형 IgSF 도메인의 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0041] [36] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로, 적어도 하나의 그의 동족 결합 파트너에 대해 야생형 IgSF 도메인 의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0042] [37] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 가용성이다.
- [0043] [38] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 펩티다화된 것이다.
- [0044] [39] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 멀티머화 도메인에

연결된다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 Fc 도메인 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체이다. 일부 구체예에서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간으로부터 유래하거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 비변형 Fc 도메인과 비교시 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구체예에서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227 에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

- [0045] [40] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 변이체 CD80 폴리펩타이드는 링커를 통해 간접적으로 연결된다.
- [0046] [41] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 다이머이다.
- [0047] [42] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인과 동일 또는 상이한 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인을 더 포함한다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgSF 도메인이다.
- [0048] [43] 전술한 면역조절 단백질들 중 어느 하나에 따른 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합되어 있다.
- [0049] [44] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 면역조절 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자가 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 핵산 분자는 합성 핵산이다. 일부 구체예에서, 핵산 분자는 cDNA이다.
- [0050] [45] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 핵산 분자를 포함하는 벡터가 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 벡터는 발현 벡터이다.
- [0051] [46] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 벡터를 포함하는 세포가 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 세포는 진핵 세포 또는 원핵 세포이다.
- [0052] [47] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 핵산 분자 또는 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 벡터를, 숙주 세포에서 단백질이 발현하는 조건 하에 숙주 세포 내로 도입하는 것을 포함하는, 면역조절 단백질의 제조 방법이 제공된다.
- [0053] [48] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 면역조절 단백질을 포함하는 의약 조성물이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 의약 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함한다. 일부 구체예에서, 의약 조성물은 멸균된 것이다.
- [0054] [49] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 의약 조성물을 바이알 내에 포함하는 제품이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 바이알은 밀봉된 것이다.
- [0055] [50] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 의약 조성물, 및 사용 지침을 포함하는 키트가 제공된다.
- [0056] [51] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 제품 및 사용 지침을 포함하는 키트가 제공된다.
- [0057] [52] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 전술한 구체예들 중 어느 하나에 따른 면역조절 단백질의 치료적 유효량을 대상자에게 투하는 것을 포함하는, 대상자에 있어서 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 면역 반응의 조절은 대상자에 있어서 질환 또는 병태를 치료한다. 일부 구체예에서, 면역 반응은 증가된다. 일부 구체예에서, 질환 또는 병태는 종양 또는 암이다. 일부 구체예에서, 질환 또는 병태는 흑색종, 폐암, 방광암 또는 혈액학적 악성종양이다. 일부 구체예에서, 면역 반응은 감소된다. 일부 구체예에서, 질환 또는 병태는 염증성 질환 또는 병태이다. 일부 구체예에서, 질환 또는 병태는 크론씨병, 궤양성 결장염, 다발경화증, 천식, 류마티스성 관절염, 또는 건선으로부터 선택된다.
- [0058] [53] 일부 구체예에서, 본 발명에 따라, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 방법이 제공되는데, 상기 방법은: a) 적어도 하나의 비-면역글로불린 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하는 변형된 단백질을, 상기 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너와 결합할 수 있는 조건 하에서 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메

인은 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 단계; b) 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 단백질에 비해, 2개의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대하여 증가된 결합능을 갖는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 단계; 및 c) 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 선택함으로써, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 단계 b)는 야생형 도메인을 포함하는 단백질에 비해 적어도 2개의 동족 결합 파트너들 각각에 대하여 증가된 결합능을 갖는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서는, 단계 a)에 앞서, 야생형 IgSF 도메인에 아미노산 치환을 하나 이상 도입시킴으로써, 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 생성한다. 일부 구체예에서, 변형된 단백질은 적어도 2개의 변형된 IgSF 도메인들 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 포함하되, 여기서 제1 IgSF 도메인은 제1 야생형-유형의 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 각각 특이적으로 결합한다.

[0059] [54] 일부 구체예에서, 적어도 하나의 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질도 제공된다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 2개의 세포-표면 분자종들에 비경쟁적으로 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 각각의 분자종(분자종들)은 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 2개의 포용물 세포종 적어도 하나에서 발현된다. 일부 구체예에서, 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 배치된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포들 중 하나는 림프구이고 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합에 의해 림프구의 면역학적 활성이 조절된다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포에 특이적으로 결합한다.

[0060] [55] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 2개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하고 면역조절 단백질은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하되, 여기서 상기 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 IgSF 도메인과는 다른 종의 것이다.

[0061] [56] 일부 구체예에서, 2개의 포유동물 세포 중 하나는 종양 세포이다. 일부 구체예에서, 림프구는 NK 세포 또는 T-세포이다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 마우스, 래트, 시노물구스 원숭이 또는 인간 세포이다.

[0062] [57] 일부 구체예에서, IgSF 세포 표면 분자종들은 인간 IgSF 멤버들이다.

[0063] [58] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 친화성 변형된 포유동물 IgSF 멤버이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgV, IgC1, 또는 IgC2 도메인이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 야생형 IgSF 도메인과 1 내지 10개의 아미노산 치환만큼 차이가 난다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 야생형 IgSF 도메인과 1 내지 5개의 아미노산 치환만큼 차이가 난다.

[0064] [59] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 인간 IgSF 멤버는: CD80, PVR, ICOSLG, 또는 HAVCR2 중 적어도 하나이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 하나의 친화성 변형된 인간 CD80 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 인간 CD80 IgSF 도메인이다.

[0065] [60] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 면역조절 단백질은, SEQ ID NOS: 1-27, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 85%, 90%, 95%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는 제2의 면역조절 단백질을 더 포함한다.

[0066] [61] 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 증강된다. 다른 구체예에서, 면역학적 활성은 억제된다.

[0067] [62] 일부 구체예에서, 2개의 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대한 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합 친화성은 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 오로지 정확히 하나의 IgSF 멤버와 비경쟁적으로 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 2개의

세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 그의 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.

- [0068] [63] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 결정화가능한 항체 단편(Fc)에 직간접적으로 공유결합한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된 것이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 가용성이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막 내에 매립되어 있다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 분자간 디설파이드 결합에 의해 다이머화된다.
- [0069] [64] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 약학적으로 허용가능한 담체에 담지된다.
- [0070] [65] 또 다른 측면에서, 본 발명에 따라 적어도 2개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 수퍼패밀리(IgSF) 도메인들을 포함하는 면역조절 단백질이 제공된다. 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 그 자신의 세포 표면 분자종들에 각각 특이적으로 결합한다. 각각의 분자종은 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 적어도 하나에서 발현되고 상기 포유동물 세포들 중 하나는 림프구이다. 분자종들은, 일부 구체예에서, 시스 배열 또는 트랜스 배열로 배치된다. 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합에 의해 림프구의 면역학적 활성이 조절된다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 경쟁적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 IgSF 도메인과 같은 종이 아니다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 비-야생형 조합이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 인간 IgSF 멤버들이다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들은: CD80, CD86, CD274, PDCD1LG2, ICOSLG, CD276, VTCN1, CD28, CTLA4, PDCD1, ICOS, BTLA, CD4, CD8A, CD8B, LAG3, HAVCR2, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, NKp30, 또는 CD200R1 중 적어도 하나로부터 유래한다.
- [0071] [66] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 2개의 친화성 변형된 포유동물 IgSF 멤버들을 포함한다. 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 멤버들은 인간 IgSF 멤버들이다. 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 멤버들은: CD80, CD86, CD274, PDCD1LG2, ICOSLG, CD276, VTCN1, CD28, CTLA4, PDCD1, ICOS, BTLA, CD4, CD8A, CD8B, LAG3, HAVCR2, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, NKp30, 또는 CD200R1 중 적어도 2가지이다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 증강된다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 억압된다. 일부 구체예에서, 2개의 포유동물 세포들 중 하나는 종양 세포이다. 일부 구체예에서, 림프구는 NK 세포 또는 T-세포이다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 마우스, 래트, 시노물구스 원숭이, 또는 인간 세포이다. 일부 구체예에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%의 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 세포 표면 분자종들 중 정확히 오직 1개에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 2개의 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 그의 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 IgV, IgC1, 또는 IgC2 도메인 중 적어도 하나이다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 그의 야생형 IgSF 도메인과 1 내지 10개의 아미노산 치환만큼 차이가 난다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 그의 야생형 IgSF 도메인과 1 내지 5개의 아미노산 치환만큼 차이가 난다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 결정화가능한 항체 단편(Fc)에 대해 직간접적으로 공유 결합한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 약학적으로 허용가능한 담체에 담지된다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된 것이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 가용성이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 매립되어 있다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 분자간 디설파이드 결합에 의해 다이머화된다.
- [0072] [67] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 개략된 면역조절 단백질 중 어느 하나를 인코딩하는 재조합 핵산에 관한 것이다.
- [0073] [68] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 개략된 면역조절 단백질 중 어느 하나를 인코딩하는 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0074] [69] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 개략된 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포에 관한 것이다.
- [0075] [70] 또 다른 측면에서, 본 발명은 상기 개략된 면역조절 단백질 중 어느 하나를 만드는 방법에 관한 것이다. 이 방법은 면역조절 단백질을 발현하는 조건 하에 재조합 숙주 세포를 배양하고, 재조합 발현 벡터에 의해 인코딩된 면역조절 단백질을 숙주 세포에서 발현시킨 다음, 발현된 재조합 면역조절 단백질을 정제하는 단계를 포함한다.
- [0076] [71] 또 다른 측면에서, 본 발명은 진술한 구체예들 중 어느 하나의 면역조절 단백질의 치료적 유효량을 투여함

으로써, 증강 또는 억제된 면역학적 반응을 필요로 하는 포유동물 환자를 치료하는 방법에 관한 것이다. 일부 구체예에서, 증강된 면역학적 반응은 환자에 있어서 흑색종, 폐암, 방광암, 또는 혈액학적 악성종양을 치료한다. 일부 구체예에서, 억제된 면역학적 반응은 환자에 있어서 크론씨병, 궤양성 결장염, 다발경화증, 천식, 류마티스성 관절염, 또는 건선을 치료한다.

도면의 간단한 설명

[0077]

[72] 도 1A는 비표지 재조합 인간 PD-L1-his, 인간 CTLA-4-his 또는 인간-PD-L2-Fc 융합 단백질의 존재 하에, 고정된 CD80 변이체 A91G ECD-Fc 융합 분자에 대한 바이오티닐화된 재조합 CD28 Fc 융합 단백질 (rCD28.Fc)의 결합의 경쟁 결합 분석 결과를 나타낸 도면이다.

[73] 도 1B는 비표지 재조합 인간 rCD28.Fc, 인간 CTLA-4.Fc 또는 인간 PD-L2.Fc의 존재 하에, 고정된 CD80 변이체 A91G ECD-Fc 융합 분자에 대한 바이오티닐화된 재조합 인간 PD-L1-his 모노머 단백질의 결합의 경쟁 결합 분석 결과를 나타낸 도면이다.

참조 병합

[74] 특허, 특허 출원, 과학기사 및 데이터베이스를 비롯한 본 명세서에 언급된 모든 간행물은 마치 이들 특허, 특허 출원, 과학기사 및 데이터베이스가 개별적으로 그리고 구체적으로 참조 병합되는 것으로 표시된 것처럼, 그 내용 전체가 본 발명에 참조 병합된다. 만일 본 명세서에 제시된 정의가 본 명세서에 참조 병합된 특허, 특허 출원, 공개된 출원 및 기타 간행물에 제시된 정의와 상반되거나 일치하지 않을 경우, 본 명세서 상의 자체 정의가 이들 참조 병합된 문헌의 정의에 우선한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0078]

발명의 설명

[0079]

[75] 본 발명에 따라 면역학적 면역 반응을 조절, 예컨대 유도, 증강 또는 억제하기 위해 하나 이상의 단백질 리간드들, 일반적으로 2개 이상의 단백질 리간드들에 결합할 수 있는 가용성 면역조절 단백질이 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 단백질 리간드들은 억제 또는 활성화 시그널을 유도하기 위해 예컨대 림프구 상에서, 하나 이상의 다른 면역 수용체와 연관된 면역 세포에 의해 발현되는 세포 표면 단백질들이다. 예를 들어, 림프구 상의 특정 수용체들이 그들의 동족 세포 표면 리간드들과 상호작용하여 항원-제시 세포(APCs) 또는 표적 세포와 림프구들 사이에 면역학적 시냅스(IS)가 형성되면 면역계를 제어할 수 있는 공동자극 또는 억제 시그널이 제공될 수 있다. 몇몇 측면에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 세포 표면 단백질 리간드들과 이들의 수용체들 간의 상호작용을 변경시킬 수 있고 이에 따라 T 세포와 같은 면역 세포의 활성을 조절할 수 있다.

[0080]

[76] 일부 구체예에서, 정상적인 생리적 조건 하에서, T 세포-매개된 면역 반응은 T 세포수용체 (TCR)에 의한 항원 인식에 의해 개시되며 공동자극 시그널과 억제 시그널 간의 밸런스에 의해 제어된다 (즉, 면역 체크포인트 단백질들). 면역계는 자가면역성 (즉, 자가-관용성)을 예방하고, 면역 반응 동안, 예컨대 병원성 감염에 대한 공격이 일어나는 동안 과도한 손상으로부터 조직을 보호하기 위해, 면역 체크포인트에 의존한다. 그러나, 몇몇 경우, 이들 면역조절 단백질은 면역계를 회피하기 위한 메카니즘으로서, 종양을 비롯한 질병 및 병태에서 조절장애될 수 있다.

[0081]

[77] 따라서, 몇 가지 측면에서, T 세포 활성화와 같은 면역 세포 활성을 변경시키는 면역요법은 면역 반응이 조절균형을 겪게 되는 어떤 질병 및 병태를 치료할 수 있다. IS에 있어서 상호작용을 조절하기 위한 치료적 접근법은, 시제 연속 및 공간 배향에 민감한 방식으로 복수개의 IS 표적에 동시에 결합할 수 있을 경우 유리할 것이다. 현재의 치료적 접근법은 이 목적과 동떨어져 있다. 대신, 가용성 수용체들 및 항체들은 일반적으로 한 번에 오직 1개 이하의 표적 단백질과 결합한다. 이것은 아마도 복수 개의 표적 종이 부재하기 때문인 듯 하다. 이에 더해, 야생형 수용체들 및 리간드들은 동족 결합 파트너들에 대한 친화성이 낮는데, 이로 인해 이들은 가용성 치료제로서 사용되지 못한다.

[0082]

[78] 그러나, 가용성 수용체들 및 항체들이 대체로 경쟁적으로 결합하고 (예컨대, 한번에 하나 이하의 표적 종에 결합) 그에 따라 동시에 복수개의 표적에 결합하는 능력을 결여한다는 것은 가벼이 여길 사항이 아니다. 또한 이중의 항원 결합 영역들을 포함하는 방식 뿐 아니라 이중특이 항체들은 동시에 두 개 이상의 표적 분자에 결합할 수 있기는 하지만, 이러한 방식에 전형적인 3차원 배열은 이들의 시공간적 요구사항과 일치하는 방식으로 IS에서 일어나는 핵심적인 프로세스에 이들이 개재하는 것을 종종 배제시킨다.

- [0083] [79] 따라서 항체 또는 가용성 수용체들의 특이성과 친화성을 갖는 한편, 이에 더해 IS에서 요구되는 크기, 부피 및 공간 배향 상의 제약을 유지하면서 각각의 동족 결합 파트너들에 대해 증가된 친화성을 갖는, 완전히 새로운 부류의 치료용 분자들이 요구되고 있다. 또한, 이러한 치료제들은 그들의 표적에 대해 경쟁적으로 뿐만 아니라 비경쟁적으로 결합할 수 있어야만 할 것이다. 이러한 속성을 갖는 분자는 따라서 IS에서 멀티-단백질 복합체로 통합가능한 신규한 기능을 가질 뿐 아니라 소망되는 결합 배열 및 그에 결과적인 생물학적 활성을 나타낼 것이다.
- [0084] [80] 이 목적을 위해, 새롭게 대두되는 면역-종양학 치료법은 종양-유도된 T 세포 관용성을 안전하게 파괴할 필요가 있다. 현행의 면역치료제들은 T 세포 억제 기능에 제한하는 것으로 알려진 B7/CD28 패밀리의 중심 억제 분자들인 PD-1 또는 CTLA4를 차단한다. 이러한 단일 표적들에 대한 길항적 항체들은 면역 시냅스 체크포인트 시그널링 복합체를 파괴하는 반면, 이들은 T 세포들을 동시에 활성화시키지 못한다. 이와 반대로, 이중특이 항체 접근법은 T 세포들을 활성화시키지만, 유도된 시그널을 조절하는 억제 리간드들을 동시에 차단하지는 못한다.
- [0085] [81] 이러한 단점들을 해결하기 위해, 본 발명에 따라 일부 구체예에서 T 세포 활성화 시그널링을 자극하면서도 억제 조절을 동시에 차단하는 치료용 분자들이 제공된다. 일부 구체예에서, 제공된 면역조절 단백질들은 T-세포 활성화 및 억제 리간드의 차단이라는 두 가지 역할을 모두 하는 것으로 알려진 면역 시냅스의 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 성분에 관계된다. 특정 측면에서, 제공된 면역조절 단백질들은 친화성 변형된 천연 면역 리간드들을 이용하는 면역요법 플랫폼을 제공함으로써 다양한 종양학 및 면역학적 증상 치료시 그들의 동족 면역 수용체들 중 하나 이상에 대해 조율가능한 친화성으로 결합하는 면역요법 생물학을 생성한다. 몇몇 측면에서, 인간 면역계 리간드와 같은 면역계 리간드로부터 조작된 IgSF 기반 치료제들은 그 자체로 보통 면역 시냅스의 핵심 경로 내로 집결되는 이들의 능력을 유지할 확률이 더 많으면서도, 항체 또는 차세대 이중특이 시약은 할 수 없는 정상적인 상호반응 및 조절 기능을 유지한다. 이것은 항체들이 면역 시냅스의 자연적인 성분이라는 사실 뿐만 아니라 항체들의 비교적 커다란 크기에 기인한다. 인간 면역계 리간드들의 이러한 독특한 성질은 면역요법 효능 및 안전성 측면에서 새로운 지평을 제공할 것으로 기대된다.
- [0086] [82] 본 명세서에서 사용된 소제목들은 어디까지나 내용 정리 차원에서 제공된 것일 뿐 본 발명을 어느 형태로든 한정하는 것으로 해석되어서는 아니된다.
- [0087] I. 정의
- [0088] [83] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술용어, 각주, 및 기타 기술 및 과학용어들은 본 발명이 속한 기술분야의 통상의 기술자에 의해 공통적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로 의도된다. 몇몇 경우, 그 의미가 널리 이해되는 용어들도 명확성 및/또는 용이한 참조를 위해 본 명세서에 정의하였고, 본 명세서에 이들 정의가 포함되었다 해서 기술 분야에서 일반적으로 이해되는 것과 실질적인 차이를 나타내는 것으로 추정되어서는 아니된다.
- [0089] [84] 본 명세서 전반에 걸쳐 사용되는 용어들은 특수한 경우 달리 언급되지 않는 한 하기 정의된 의미를 갖는다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위에서, 단수 형태 "a," "an," 및 "the"는 문맥상 명백히 달리 지시하지 않는 한 복수 의미를 아울러 포함한다. 달리 정의하지 않는 한, 본 명세서에 언급된 모든 기술 및 과학 용어들, 두문자어 및 약어들은 본 발명이 속한 기술 분야의 통상의 기술자에 의해 흔히 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 달리 명시되지 않는 한, 화학 및 생화학명의 약칭 및 심볼은 IUPAC-IUB 명명법에 따른다. 달리 지시되지 않는 한, 모든 수치 범위는 범위를 한정하는 값들은 물론 그 사이의 정수 값들을 아울러 포함한다.
- [0090] [85] 면역글로불린 수퍼패밀리 도메인의 문맥상 사용된 "변형된 친화성(affinity modified)"이라는 용어는, 포유동물 면역글로불린 수퍼패밀리(IgSF) 도메인이 변형된 아미노산 서열(야생형의 대조군 IgSF 도메인에 비해)을 가짐으로써 해서, 야생형 (즉, 비-친화성 변형된) IgSF 대조군 도메인에 비해, 그의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대해 증가 또는 감소된 결합 친화성 또는 결합능(avidity)을 갖는 것을 의미한다. 일부 구체예에서, IgSF 도메인은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에서 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개 또는 그 이상의 아미노산 차이, 예컨대 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 야생형 IgSF 대조군 도메인에 비해, 그의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대해 증가 또는 감소된 결합 친화성 또는 결합능을 갖지 않는 변형된 아미노산 서열(야생형 대조군 IgSF 도메인에 비해)을 갖는 IgSF 도메인은 비-친화성 변형된 IgSF 도메인이다. 결합 친화성 또는 결합능의 증가 또는 감소는 유세포 분석법과 같은 공지의 결합 분석법을 이용하여 알아낼 수 있다. Larsen et al., American Journal of Transplantation, Vol 5: 443-453 (2005). Linsley et al., Immunity, 1: 7930801 (1994) 참조. 어떤 단백질의 그의 동족 결합 파트너(들)에 대한 결합 친화성 또는 결합능의 증가는 야생형 IgSF 도메인 대조

군의 값보다 적어도 10% 더 큰 값을 의미하며 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인 대조군 값에 비해 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 100%, 200%, 300%, 500%, 1000%, 5000%, 또는 10000% 더 큰 것을 의미한다. 어떤 단백질의 그의 동족 결합 파트너(들)에 대한 결합 친화성 또는 결합능의 감소는 대조군의 90% 이하 그러나 야생형 IgSF 도메인 대조군 값의 10% 이상의 값을 의미하고, 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인 대조군 값의 80% 이하, 70% 이하, 60% 이하, 50% 이하, 40% 이하, 30% 이하, 또는 20% 이하, 그러나 10% 이상의 값을 의미한다. 친화성 변형된 단백질은 아미노산 잔기의 치환, 부가 또는 결실에 의해 주요 아미노산 서열이 변경된 것이다. 용어 "친화성 변형된 IgSF 도메인"은 그 친화성 변형된 IgSF 도메인이 형성된 특정한 방법 또는 출발 조성물에 대해 어떠한 조건을 부과하는 것으로 상정되어서는 아니된다. 따라서, 본 발명의 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 친화성 변형의 어떤 특정한 프로세스에 의해 친화성 변형된 IgSF 도메인으로 형질전환될 야생형 IgSF 도메인들로 한정되지 않는다. 친화성 변형된 IgSF 도메인 폴리펩타이드는, 예컨대, 야생형의 포유동물 IgSF 도메인 서열 정보로부터 출발하여 생성된 다음, 그의 동족 결합 파트너에 대한 결합에 관하여 가상적으로(in silico) 모델링된 다음 마지막으로, 친화성 변형된 IgSF 도메인 조성물의 생성을 위해 재조합적으로 또는 화학적으로 합성된다. 한 가지 별법 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인의 위치-지향된(site-directed) 돌연변이에 의해 만들어질 수 있다. 따라서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 생성물을 가리키는 것이지, 반드시 주어진 프로세스에 의해 만들어진 생성물을 가리키는 것은 아니다. 재조합 방법, 화학적 합성법 또는 이들의 조합을 비롯한 다양한 기술을 이용할 수 있다.

[0091] [86] 본 명세서에서 "결합 친화성(binding affinity)," 및 "결합능(binding avidity)" 등의 용어는 특수한 결합 조건 하에서, 어떤 단백질의, 그의 동족 결합 파트너에 대한 특이적인 결합 친화성 및 특이적인 결합능을 각각 의미한다. 생화학적 키네틱스 관점에서, 결합능은 IgSF 도메인과 그의 동족 결합 파트너 사이와 같은, 개별적인 비-공유 결합 상호작용의 복수 친화성(multiple affinities)의 축적된 강도를 가리키는 것이다. 그에 따라, 결합능은 단일 상호작용의 강도를 설명하는 친화성과는 구별된다. 결합 친화성 또는 결합능을 구하는 방법은 기술분야에 알려져 있다. 예컨대, 문헌 [Larsen et al., American Journal of Transplantation, Vol 5: 443-453 (2005)] 참조.

[0092] [87] "생물학적 반감기(biological half-life)"라는 용어는 본 발명의 면역 조절 폴리펩타이드와 같은 물질이 그의 약리학적 또는 생리학적 활성 또는 농도의 절반을 잃어버리는데 걸리는 시간을 가리킨다. 생물학적 반감기는 해당 물질의 제거, 배출, 분해(예컨대 효소 분해), 또는 신체 장기 또는 조직에서의 흡수 및 농축에 의해 영향받을 수 있다. 일부 구체예에서, 생물학적 반감기는 어떤 물질의 혈장 농도가 그의 정상 상태 수준의 절반에 도달하는데 걸리는 시간("혈장 반감기")을 측정함으로써 평가될 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드의 생물학적 반감기를 유도 및 증가시키는데 이용될 수 있는 컨쥬게이트는 기술분야에 공지이며 이의 비제한적인 예로는 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 히드록시에틸 전분(HES), XTEN (연장된 재조합 펩타이드; WO2013130683 참조), 인간 혈청 알부민(HSA), 소 혈청 알부민(BSA), 지질(아실화), 및 폴리-Pro-Ala-Ser (PAS), 폴리글루탐산(글루타밀화)을 들 수 있다.

[0093] [88] IgSF 도메인 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인과 같은 단백질과 관련하여 "동족 결합 파트너"라는 용어는 특이적인 결합 조건 하에서 언급된 단백질이 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 분자(전형적으로, 천연 포유동물 단백질)를 가리킨다. 특이적인 결합 조건 하에서 그의 동족 수용체를 인식하여 특이적으로 결합하는 리간드 중은 그 수용체의 동족 결합 파트너의 일례이다. "동족 세포 표면 결합 파트너(cognate 세포 surface binding partner)"는 포유동물 세포 표면 상에 발현되는 동족 결합 파트너이다. 본 발명에서 "세포 표면 분자종들(cell surface molecular species)"은 면역학적 시냅스를 형성하는, 포유동물 세포와 같은 세포에 의해 세포 상에서 발현되는, 면역학적 시냅스(IS)의 동족 결합 파트너이다.

[0094] [89] 본 명세서에서 "경쟁적 결합(competitive binding)"이라는 용어는 어떤 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 특이적으로 결합할 수 있으나 하나의 동족 결합 파트너의 그 특이적인 결합이 제2 동족 결합 파트너의 동시적인 결합을 방지 또는 배제하는 것과 같이 저해하는 것을 의미한다. 그러므로, 몇몇 경우에서, 단백질이 2개의 동족 결합 파트너에 동시에 결합할 수는 없다. 일반적으로, 경쟁적 바인더는 특이적인 결합에 대하여 동일하거나 중복적인 결합 부위를 함유하지만, 반드시 요구되는 것은 아니다. 일부 구체예에서, 경쟁적 결합은 제2 동족 결합 파트너의 특이적인 결합으로 인해, 그의 동족 결합 파트너 중 하나에 대한 단백질의 특이적 결합을 측정가능하게 억제한다(부분적 억제 또는 완전한 억제). ELISA(효소결합면역흡수 분석법)와 같이, 경쟁적 결합을 정량하는 다양한 방법이 알려져 있다.

[0095] [90] 본 명세서에서 "보존적 아미노산 치환"이라는 용어는 어떤 아미노산 잔기가, 화학적 특성(예컨대 전하 또는 소수성)이 유사한 측쇄 R기를 갖는 다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 아미노산 치환을 의미한다. 화학적

특성이 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 그룹의 예로는: 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 2) 지방족-히드록시 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르트산 및 글루탐산; 및 7) 함황 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 들 수 있다. 보존적 아미노산 치환 그룹으로는 다음을 들 수 있다: 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파테이트 및 아스파라긴-글루타민.

[0096] [91] 단백질 위치와 관련하여 "대응하는(corresponding to)"이라는 용어, 예컨대, 개시된 서열, 예컨대 서열 목록 내의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치에 "대응하는" 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치라 함은 구조적인 서열 정렬 또는 GAP 알고리즘과 같은 표준 정렬 알고리즘에 기초하여, 개시된 서열과의 정렬에 의해 동정된 뉴클레오타이드 또는 아미노산 위치를 가리킨다. 서열들을 정렬함으로써, 통상의 기술자는 예컨대 보존된 그리고 동일한 아미노산 잔기가 안내하는대로 이용하여, 대응하는 잔기들을 동정할 수 있다.

[0097] [92] "사이토카인"이라는 용어에는 인터류킨, 인터페론(IFN), 케모카인, 조혈성장인자, 종양괴사인자(TNF), 및 형질전환 성장인자가 포함되나 이에 한정되지 않는다. 일반적으로, 이들은 면역계 세포들의 성숙, 활성화, 증식 및 분화를 조절하는 저분자량의 단백질들이다.

[0098] [93] 본 명세서에서 "감소하다(decrease)" 또는 "약화되다/감쇠하다(attenuate)" 또는 "억제하다(suppress)" 등의 용어는 통계적으로 유의한 양으로 감소한다는 의미이다. 감소는 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100%일 수 있다.

[0099] [94] "유도체(derivatives)" 또는 "유도된(derivatized)"이라는 표현은 면역조절 단백질을 직접 또는 간접적으로, 공유적으로 연결시킴으로써, 그의 치료 효능은 유지 또는 증강되는 한편, 반감기, 생체이용성, 면역원성, 용해도, 독성, 포텐시 또는 효능과 같은 특성들은 변경되는 변형을 가리킨다. 유도체들은 글리코실화, 폐길화, 지질화(lipidation) 또는 Fc-융합에 의해 만들어질 수 있다.

[0100] [95] 본 명세서에서, 도메인 (일반적으로 3개 이상, 일반적으로 5개 또는 7개 또는 그 이상의 아미노산, 예컨대 10 내지 200개의 아미노산 잔기)은 단백질 또는 인코딩 핵산과 같은 어떤 분자의 다른 부분들과 구조적 및/또는 기능적으로 구별되는, 그 분자의 어떤 부분을 가리키는 것으로 동정가능한 부분을 의미한다. 예를 들어, 도메인 들에는 하나 이상의 구조적 모티프로 만들어진 단백질 내에서 독립적으로 폴딩된 구조를 형성할 수 있는, 및/또는 결합 활성화와 같은 기능적 활성화에 의해 인식되는, 폴리펩타이드 사슬의 일부가 포함된다. 하나의 단백질은 하나 또는 복수개의 구별되는 도메인들을 가질 수 있다. 예를 들어, 주요(primary) 서열 상동성 또는 관련된 패밀 리 멤버들에 대한 구조 상동성, 예컨대 모티프에 대한 상동성에 의해, 도메인을 동정, 정의 또는 구별할 수 있다. 또 다른 예에서, 도메인은 동족 결합 파트너와 같은, 바이오분자와 상호반응하는 능력과 같은, 그의 기능에 의해 구별될 수 있다. 도메인은 생물학적 기능 또는 활성을 독립적으로 나타낼 수 있으므로, 도메인은 독립적으로 또는 다른 분자에 융합되어 예컨대 결합과 같은 활동을 수행할 수 있다. 도메인은 아미노산의 선형 서열이거나 또는 아미노산의 비-선형 서열일 수 있다. 많은 폴리펩타이드들이 도메인을 복수개 함유한다. 이러한 도메인 들은 공지이고, 통상의 기술자에 의해 동정될 수 있다. 예시를 위해, 도메인에 대한 정의가 제시되었지만, 통상의 기술자들에게는 특정 명칭의 도메인들이 잘 인식되어 있다. 필요한 경우, 적절한 소프트웨어를 이용하여 도메인들을 동정할 수 있다. IgSF 도메인의 도메인 조직을 설명하는데 사용된, SEQ ID NO로서 제시된 특정 서열을 비롯하여, 아미노산을 참조로 하는 것은 오직 설명 목적을 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 제공된 구체예들의 범위로 한정되는 것이 아님을 이해하여야 한다. 폴리펩타이드와 그의 도메인의 설명은 상동성 분석 및 유사한 분자들과의 정렬에 이론적으로 기반한 것이다. 따라서, 정확한 위치는 변할 수 있으며 각 단백질에 대해 반드시 동일한 것은 아니다. 그러므로, 특이적인 IgV 도메인 또는 IgC 도메인과 같은, 특이적인 IgSF 도메인은 수개의 아미노산 (1개, 2개, 3개 또는 4개) 만큼 길거나 짧을 수 있다.

[0101] [96] 본 명세서에서 "엑토도메인(ectodomain)"이라는 용어는 소포성 막(vesicular membrane)의 외부에 위치한, 막통과 단백질과 같은 막 단백질 영역을 가리키는 것이다. 엑토도메인들은 종종 리간드이나 또는 세포 표면 수용체들에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함한다. 세포의 막통과 단백질의 엑토도메인은 달리 세포의 도메인이라고도 칭해진다.

[0102] [97] "유효량" 또는 "치료적 유효량"이라 함은 본 발명의 치료용 조성물이 단독으로 (즉, 단독요법) 또는 부가적인 치료제와 조합적으로, 생체외(ex vivo) 투여되거나 (환자로부터의 세포와의 접촉에 의해) 또는 생체내 투여될 경우(환자 체내로의 투여에 의해), 예컨대 질병의 증상 및/또는 원인을 완화 또는 제거함으로써, 질병 진행을 통계적으로 유의하게 억제시키는 치료 조성물의 양 및/또는 농도를 의미한다. 면역계 질환 또는 장애를 치

료하기 위한 유효량은 그 질환 또는 장애와 연관된 생물학적 반응 또는 효과 또는 적어도 하나의 증상을 감소, 경감 또는 완화시키거나, 또는 환자의 신체 기능을 향상시키는 양이다. 일부 구체예에서 환자는 인간 환자이다.

[0103] [98] 본 명세서에서 포유동물 림프구의 면역학적 활성의 증가 관점에서 "증강되다(enhanced)" 또는 "증가하다(increased)"라는 용어는 통계적으로 유의한 양만큼, 인터페론 감마(IFN-감마) 생산량이 증가되었음을 의미한다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 림프구 혼합 배양반응(MLR) 분석법으로 평가가능하다. MLR 분석법의 실시 방법은 기술분야에 공지이다. [참조: Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56]. 일부 구체예에서 증강은 비-제로 대조군값(non-zero control value)보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 이상 증가한 것일 수 있다.

[0104] [99] "숙주 세포"라 함은 재조합 발현 벡터에 의해 인코딩된 단백질을 발현하는데 사용가능한 세포를 가리킨다. 숙주 세포는 예컨대 대장균과 같은 원핵세포일 수 있고 또는 예컨대 단세포 진핵세포(예컨대 효모 또는 기타 진균류)와 같은 진핵세포, 식물 세포(예컨대 담배 또는 토마토 식물 세포), 동물 세포(예컨대 인간 세포, 원숭이, 햄스터 세포, 래트 세포, 마우스 세포 또는 곤충 세포) 또는 하이브리도마일 수 있다. 숙주 세포의 예로는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 Veggie CHO와 같은 그의 관련 유도체 및 무혈청 배지에서 자라는 관련 세포주 또는 DHFR이 결핍된 CHO 균주 DX-B11을 들 수 있다.

[0105] [100] 본 명세서에서 "면역학적 시냅스(immunological synapse)" 또는 "면역 시냅스(immune synapse)"라는 용어는 항원-제시 세포 또는 종양세포와 같이 MHC I (주조직적합 복합체) 또는 MHC II을 발현하는 포유동물 세포와 이펙터 T 세포 또는 내츨 킬러(NK) 세포와 같은 포유동물 림프구 간의 인터페이스를 의미한다.

[0106] [101] 본 명세서에서 용어 "면역글로불린" ("Ig"로 약칭됨)이라 함은 용어 "항체" ("Ab"로 약칭됨)와 동의어이며 다음의 5가지 인간 클래스들 중 하나 이상을 포함하는 포유동물의 면역글로불린 단백질을 가리킨다: IgA (서브클래스 IgA1 및 IgA2를 포함한다), IgD, IgE, IgG (서브클래스 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4를 포함한다), 및 IgM. 이 용어는 또한 전장 길이에 못 미치는 면역글로불린, 완전히 또는 부분적으로 합성된 면역글로불린(예컨대 재조합 또는 화학적 합성) 또는 자연적으로 생성된 면역글로불린, 예컨대 항원 결합 단편(Fab), V_H 및 V_L 를 비롯한 가변 단편(Fv), 하나의 사슬에 V_H 및 V_L 이 함께 연결하여 함유하는 단일 사슬 가변 단편(scFv), 및 그 밖의 항체 V 영역 단편, 예컨대 Fab', F(ab)₂, F(ab')₂, dsFv 다이아바디, Fc, 및 Fd 폴리펩타이드 단편들을 모두 포괄한다. 동종이중특이성이건 이종이중특이성이건 이중특이 항체들도 이 용어에 포함된다.

[0107] [102] 면역글로불린 분자의 Fc (결정화가능한 단편) 영역 또는 도메인 (Fc 폴리펩타이드라고도 칭해짐)은 대체로 면역글로불린 중쇄의 불변부에 대응하고, 항체의 이펙터 기능(들)을 비롯한, 다양한 기능에 책임이 있다. 면역글로불린 Fc 융합체 ("Fc-융합체(Fc-fusion)")은 면역글로불린의 Fc 영역에 작동적으로 연결된 하나 이상의 폴리펩타이드 (또는 하나 이상의 소분자)를 포함하는 분자이다. Fc-융합체는 예를 들, 항체의 Fc 영역 (약동학을 용이하게 해줌) 및 야생형 또는 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 도메인 ("IgSF") 또는 다른 단백질의 IgSF 도메인 또는 그의 단편을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, Fc는 부가적으로 이펙터 기능을 용이하게 한다. 일부 구체예에서, Fc는 이펙터 기능을 용이하게 하는 활성이 감소된(예컨대 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 감소된) 변이체 Fc이다. IgSF 도메인은 동족 결합 파트너 (항원에 대한 항체의 항체 가변부의 그것과 필접함)의 인식을 매개한다. 면역글로불린 Fc 영역은 하나 이상의 폴리펩타이드 또는 소분자(융합 파트너)에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 다양한 링커들이 기술분야에 알려져 있으며 Fc를 융합 파트너와 연결시켜 Fc-융합체를 생성하는데 이용될 수 있다. 본 발명의 Fc-융합 단백질은 전형적으로 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인에 직접 또는 간접적으로 공유 결합된 면역글로불린 Fc 영역을 포함한다. 동일한 종의 Fc-융합체들은 다이머화하여 Fc-융합 호모다이머를 형성할 수 있고, 또는 동일하지 않은 종들이 Fc-융합 헤테로다이머를 형성할 수 있다.

[0108] [103] 본 명세서에서 용어 "면역글로불린 슈퍼패밀리" 또는 "IgSF"는 세포의 인식, 결합 또는 부착 프로세스에 관여하는 일군의 세포 표면 및 가용성 단백질을 의미한다. 분자들은 면역글로불린들(즉 항체들)과 공유된 구조적 속성에 기반하여 이 슈퍼패밀리의 멤버로서 분류된다; 이들 모두는 면역글로불린 도메인 또는 폴드라 알려진 도메인을 갖는다. IgSF의 멤버들에는 면역계의 세포 표면 항원 수용체들, 공동-수용체들 및 공동-자극 분자들, 림프구에 대한 항원 제시와 관련된 분자, 세포 부착 분자, 특정한 사이토카인 수용체들 및 세포내 근육 단백질들이 포함된다. 이들은 면역계 내에서의 역할에 공통적으로 연관되어 있다. 면역학적 시냅스 내의 단백질들은 종종 IgSF의 멤버이다. IgSF는 기능과 같은 공유 속성에 따라 "서브패밀리"로 세분될 수 있다. 이러한 서브패밀리들은 대개 4 내지 30개의 IgSF 멤버들로 이루어진다.

- [0109] [104] 본 명세서에서 "IgSF 도메인" 또는 "면역글로불린 도메인" 또는 "Ig 도메인"이라는 용어는 IgSF 단백질들의 구조 도메인을 가리킨다. Ig 도메인들은 면역글로불린 분자들의 이름을 따서 명명된다. 이들은 약 70-110개의 아미노산을 함유하며 이들의 크기와 기능에 따라 분류된다. Ig-도메인들은 역평행 베타 스트랜드들 2개 시트에 의해 형성되는 샌드위치-유사 구조를 갖는 특징적인 Ig-폴드를 갖는다. 샌드위치의 내측의 소수성 아미노산들과 B 스트랜드와 F 스트랜드의 시스테인 잔기들 간에 형성된 고도로 보존된 디설파이드 결합 간의 상호반응은, Ig-폴드를 안정화시킨다. Ig 도메인의 한쪽 말단은 이들의 리간드들에 대한 항체 특이성에 중요한 보체 결정 영역이라 칭해지는 섹션을 갖는다. Ig 유사 도메인들은: IgV, IgC1, IgC2, 또는 IgI로 분류될 수 있다. 대부분의 Ig 도메인들은 가변성(IgV)이거나 불변성(IgC)이다. 9개의 베타 스트랜드를 갖는 IgV 도메인들은 7개의 베�타 스트랜드를 갖는 IgC 도메인들 보다 일반적으로 더 길다. IgSF의 몇몇 멤버들의 Ig 도메인들은 아미노산 서열 내 IgV 도메인들과 유사하면서도, 그 크기는 IgC 도메인들과 유사하다. 이들은 IgC2 도메인들이라 칭해지며, 표준 IgC 도메인들은 IgC1 도메인이라 칭해진다. T-세포 수용체 (TCR: T-cell receptor) 사슬은 세포의 부분에 2개의 Ig 도메인을 갖는데 구체적으로: 하나의 IgV 도메인은 N-말단에, 하나의 IgC1 도메인은 세포막 근처에 위치한다.
- [0110] [105] 본 명세서에서 "IgSF 종"이라는 용어는 동일 또는 실제로 동일한 주요 아미노산 서열을 갖는 IgSF 멤버 단백질들의 앙상블을 의미한다. 각각의 포유동물 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 멤버는 그 IgSF 멤버에 속하는 모든 IgSF 종들의 독특한 아이덴티티를 정의한다. 그러므로, 각각의 IgSF 패밀리 멤버는 다른 IgSF 패밀리 멤버들과는 구별되며, 그에 따라, 특정한 IgSF 패밀리 멤버의 각각의 종들은 다른 IgSF 패밀리 멤버의 종들과 구별된다. 그럼에도 불구하고, 글리코실화, 인산화, 유비퀴틴화, 니트로실화, 메틸화, 아세틸화 및 지질화와 같은 번역후 변형의 차이로 인하여, 동일한 IgSF 종들의 분자들 간에도 다양성이 존재할 수 있다. 이에 더해, 유전자 다형성에 기인하는 단일 IgSF 종들 내의 마이너한 서열 차이로 인해, 예컨대 단백질 가수분해 절단에 기인하는 IgSF 종들의 야생형 트렁케이트 형태가 그러하듯 단일 IgSF 종들 내에서도 또 다른 다양성 형태가 일어난다. "세포 표면 IgSF 종들"은 세포, 일반적으로 포유동물 세포 표면에서 발현되는 IgSF 종들이다.
- [0111] [106] 본 명세서에서 포유동물의 림프구와 관련하여 "면역학적 활성화"이라는 용어는 케모카인 또는 인터류킨과 같은 사이토카인을 이들이 발현하는 것을 의미한다. 면역학적 활성화의 증강 또는 억제를 결정하는 분석법에는 인터페론-감마의 분석을 위한 MLR 분석법 (Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56), SEB (스타필로코커스의 내독소 B) T 세포 자극 분석법 (Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56), 및 항-CD3 T 세포 자극 분석법(Li 및 Kurlander, J Transl Med. 2010; 8: 104)이 포함된다. 면역 반응의 유도에 의해 비활성(quiescent) 림프구들에 비해 면역학적 활성화가 증가된다. 본 발명의 면역조절 단백질 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 멤버 또는 IgSF 도메인 대조군에 대한 주요 T-세포 분석에 있어 어떤 구체예에서는 IFN-감마 (인터페론-감마)의 발현을 증가시키고, 다른 구체예에서는 그 발현을 감소시킬 수 있다. 통상의 기술자라면 IFN-감마 발현의 증가를 알아내는데 사용되는 주요 T-세포 분석법이 IFN-감마 발현의 감소를 알아내기 위한 분석법에 사용되는 것과 다르다는 것을 인식할 것이다. 본 발명의 면역조절 단백질 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의, 주요 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 감소시키는 능력을 분석하는데 있어서, 실시예 6에 설명된 바와 같이, 림프구 혼합 배양반응(MLR) 분석법을 이용하라 수 있다. 간편하게, 본 발명의 친화성 변형된 IgSF 도메인의 가용성 형태를 사용하여 실시예 6에 설명된 바와 같이, MLR에서 IFN-감마 발현을 길항하여 그에 따라 감소시키는 그의 능력을 알아낼 수 있다. 별법으로, 본 발명의 면역조절 단백질 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의, 주요 T-세포 분석법에서의 IFN-감마 발현을 증가시키는 능력을 분석함에 있어서, 공동-고정화(co-immobilization) 분석법을 이용하라 수 있다. 공동-고정화 분석법에서는, 일부 구체예에서 항-CD3 항체에 의해 제공되는 T-세포 수용체 시그널을 공동-고정화된 친화성 변형된 IgSF 도메인과 연계 사용하여, 야생형 IgSF 도메인 대조군에 비해 IFN-감마 발현을 증가시키는 능력을 탐지한다.
- [0112] [107] "면역조절 단백질"은 면역학적 활성을 조절하는 단백질이다. 면역 반응을 "조절(modulation)" 또는 "조절하는(modulating)"이라는 표현은 면역학적 활성화가 증강되거나 억제됨을 의미한다. 면역조절 단백질은 단일 폴리펩타이드 사슬일 수도 있고 또는, 예컨대 사슬간 디설파이드 결합에 의해 서로 공유 결합된 적어도 2개의 폴리펩타이드 사슬들로 된 멀티머(다이머 또는 더 고차수의 멀티머)일 수도 있다. 그러므로, 모노머, 다이머 및 더 고차수의 멀티머 단백질 역시 본 발명의 정의된 용어 범주에 속한다. 멀티머 단백질들은 (동일한 폴리펩타이드 사슬들의) 동종멀티머일 수도 있고, (상이한 폴리펩타이드 사슬들의) 이종멀티머일 수도 있다.
- [0113] [108] 본 명세서에서 "증가하다"라는 용어는 통계적으로 유의적인 양으로 증가함을 의미한다. 증가는 비-제로(non-zero) 대조군 값보다 적어도 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 100%, 또는 그 이상 더 클 수 있다.
- [0114] [109] 본 명세서에서 "림프구"라는 용어는 포유동물 면역계에서 백혈구 세포의 3가지 서브타입 중 어느 하나를

의미한다. 이들은 내추럴 킬러 세포(NK 세포) (세포-매개된, 선천성 세포독성 면역에서 기능한다), T 세포(세포 매개된, 후천성 세포독성 면역용), 및 B 세포(체액성의, 항체-구동된 후천성 면역용)를 포함한다. T 세포에는:T 헬퍼 세포, 세포독성 T-세포, 내추럴 킬러 T-세포, 메모리 T-세포, 조절 T-세포, 또는 감마 델타 T-세포가 포함된다. 선천성 림프구 세포(ILC) 역시도 림프구 정의에 포함된다.

[0115] [110] "포유동물", "대상자" 또는 "환자"라는 용어는; 인간, 침팬지, 레수스 원숭이, 시노몰구스 원숭이, 개, 고양이, 마우스 또는 래트 중 적어도 하나를 특별히 포함한다.

[0116] [111] 본 명세서에서 포유동물의 면역 반응과 같은 면역 반응 맥락에서 "조절하는" 또는 "조절하다"라는 용어는 본 발명의 면역조절 단백질을 투여한 결과 일어나는 기존의 또는 잠재적인 면역 반응의 증가 또는 감소와 같은 여하한 변경을 가리키는 용어이다. 따라서, 이 용어는 면역조절 단백질이 투여된 경우 또는 투여되지 않은 경우 일어나거나 존재하는 면역 반응에 비해, 면역 반응의 증가 또는 감소와 같은 변경을 의미한다. 이러한 조절은 면역 세포의 면역학적 활성의 억제 또는 면역학적 활성의 정도나 범위의 유도 또는 변경을 모두 포함한다. 면역 세포에는 B 세포, T 세포, NK (내추럴 킬러) 세포, NK T 세포, 프로페셔널 항원-제시 세포(APCs), 및 비-프로페셔널 항원-제시 세포, 및 염증 세포(호중구, 대식세포, 단핵구, 호염기구)가 포함된다. 조절은 기존의 면역 반응, 발달중인 면역 반응, 잠재적인 면역 반응, 또는 면역 반응을 유도, 조절하거나 면역반응에 영향을 주거나 또는 면역반응에 응답하는 능력에 대한 여하한 변화를 모두 포함한다. 조절은 면역 반응의 일부로서 면역 세포 내 유전자, 단백질 및/또는 기타 분자들의 발현 및/또는 기능에서의 여하한 변경을 모두 포함한다. 면역학적 활성의 조절 또는 면역 반응의 조절에는 예컨대 다음이 포함된다: 면역 세포의 제거, 결실 또는 격리 (sequestration); 자가반응성 림프구, 항원 제시 세포 또는 염증 세포와 같은 기타 세포들의 기능성 성능을 조절할 수 있는 면역 세포의 유도 또는 생성; 면역 세포에서의 비반응성 상태의 유도(즉, 무감작(anergy)); 비제한적인 예로서, 이들 세포에 의해 발현되는 단백질의 패턴을 변형시키는 것을 비롯한, 면역 세포의 활성 또는 기능을 증강 또는 억제하는 것. 이의 예로는 사이토카인, 케모카인, 성장 인자, 전사 인자, 키나아제, 공동자극 분자 또는 기타 세포 표면 수용체들과 같은 특정 부류의 분자들의 변경된 생성 및/또는 분비, 또는 이들 조절 이벤트들의 여하한 조합을 들 수 있다. 조절은 예컨대 일차 T 세포 분석법에서 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인(들) 대조군에 비해 또는 이에 대한 IFN-감마 (인터페론 감마)의 변경에 의해 평가될 수 있다 [참조: Zhao 및 Ji, Exp Cell Res. 2016 Jan1; 340(1) 132-138].

[0117] [112] 본 명세서에서 "분자종들"이라는 용어는 1차 아미노산과 동일 또는 실질적으로 동일한 단백질들의 앙상블을 의미하는데 이용된다. 각각의 포유동물 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 멤버는 동일 또는 실제로 동일한 분자종들의 집합을 정의한다. 그러므로, 예컨대 인간 CD80은 IgSF 멤버이고 각각의 인간 CD80 분자는 CD80의 종이다. 동일한 분자종들의 분자들 간에도, 글리코실화, 인산화, 유키퀴틴화, 니트로실화, 메틸화, 아세틸화 및 지질화와 같은 번역후 변형에서의 차이로 인해, 변이가 일어날 수 있다. 이에 더해, 예컨대, 단백질분해 절단으로 인한 단일 분자종들의 야생형 트렁케이트 형태가 그러하듯, 유전자 다형성으로 인해 단일 분자종들 간에도 미미한 서열 차이가 있을 수 있어 단일 분자종들 사이에 또 다른 형태의 변이 형태가 나타날 수 있다. "세포 표면 분자종들"은 포유동물 세포의 표면에서 발현되는 분자종들이다. IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 어느 한쪽에만 (두 개 모두에는 아님) 배타적으로 존재하는, 2 이상의 상이한 단백질 종들은 서로 "시스" 또는 "시스 배열" 상태에 있다고 칭해진다. 2가지 상이한 단백질 종들로서, 첫 번째 종은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 하나에만 배타적으로 존재하고 두 번째 종은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 다른 하나에만 배타적으로 존재하는 경우, 이들 2 가지 상이한 단백질 종들은 "트랜스" 또는 "트랜스 배열" 상태에 있다고 칭해진다. 각 단백질이 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 모두에 존재하는 2개의 상이한 단백질 종들은 이들 세포에서 시스 배열과 트랜스 배열 모두로 존재하는 것이다.

[0118] [113] 본 명세서에서 용어 "비-경쟁적 결합(non-competitive binding)"이라 함은 어떤 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 동시에 특이적으로 결합하는 능력을 의미한다. 일부 구체예에서, 결합은 특이적인 결합 조건 하에 일어난다. 따라서, 비록 결합 반응이 동일 기간 동안 존재할 할 필요는 없으나, 적어도 2개의 상이한 동족 결합 파트너들에 대해 당해 단백질에 동시에 결합할 수 있으므로, 몇몇 경우, 당해 단백질은 동족 결합 파트너들 중 오직 하나에만 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 동시 결합은 하나의 동족 결합 파트너의 결합이 제2 동족 결합 파트너의 동시적인 결합을 실질적으로 저해하지 않도록 한다. 일부 구체예에서, 비-경쟁적 결합은 비-경쟁적 결합은 제2 동족 결합 파트너를 단백질 상의 그의 결합 부위에 결합시키는 것이 제1 동족체 결합 파트너의 단백질상 의 그의 결합 부위에 대한 결합을 대체하지 않는다는 것을 의미한다. 비-경쟁적 결합의 평가 방법은 예를 들어 문헌 [Perez de La Lastra et al., Immunology, 1999 Apr; 96(4): 663-670]에 설명된 바와 같이 기술분야에 잘 알려져 있다. 몇몇 경우, 비-경쟁적 상호반응에서, 제2 동족 결합 파트너가 제1 동족

결합 파트너의 결합을 직접적으로 간섭하지 않게끔, 제1 동족 결합 파트너는 제2 동족 결합 파트너의 상호반응 부위와 중복되지 않는 상호반응 부위에서 특이적으로 결합한다. 따라서, 제2 동족 결합 파트너의 결합에 의한 동족 결합 파트너의 결합에 미치는 효과는 어느 것이든 제1 동족 결합 파트너의 결합을 직접적으로 간섭하는 것을 제외한 메카니즘을 통한 것이다. 예를 들어, 효소-기질 상호반응 맥락에서, 비-경쟁적 억제제는 효소의 활성 부위 이외의 부위에 결합한다. 비-경쟁적 결합은, 제2 동족 결합 파트너가 제1 동족 결합 파트너의 결합과 중복되지 않는 상호반응 부위에 특이적으로 결합하지만 제1 상호반응 부위가 제1 동족 결합 파트너에 의해 점령된 경우에 한해 제2 상호반응 부위에 결합하는, 비경쟁적(uncompetitive) 결합 상호반응을 포괄한다.

[0119] [114] 본 명세서에서 "핵산" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 단일가닥 또는 이중가닥 형태의 핵산 잔기들(예컨대, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드)의 폴리머를 가리킨다, 명시적으로 한정되지 않는 한, 이 용어는 천연 뉴클레오타이드의 공지 유사체들 및 이것과 유사한 결합 특성을 갖고 자연발생적인 뉴클레오타이드들과 유사한 방식으로 대사되는 것들을 함유하는 핵산을 포괄한다. 달리 언급되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 명시적으로 지칭된 서열 뿐만 아니라 그의 보존적으로 변형된 변이체(예컨대 축퇴 코돈 치환) 및 상보적인 뉴클레오타이드 서열도 묵시적으로 포괄한다. 구체적으로, 축퇴 코돈 치환은 하나 이상의 선택된(또는 모든) 코돈들의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기들로 치환된 서열을 생성함으로써 얻어질 수 있다. 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드라는 용어에는 유전자에 의해 인코딩된 cDNA 또는 mRNA도 포괄된다.

[0120] [115] "의약 조성물"이라는 용어는 포유동물 대상자, 종종 인간에 있어서 의약 요도로 적합한 조성물을 가리킨다. 의약 조성물은 일반적으로 유효량의 활성물질(예컨대 본 발명의 면역조절 단백질), 담체, 부형제 또는 희석제를 포함한다. 담체, 부형제, 또는 희석제는 일반적으로 각각 약학적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 희석제를 말한다.

[0121] [116] "폴리펩타이드" 및 "단백질"라는 용어는 본 명세서에서 호환적으로 사용되며 펩타이드 결합을 통해 2 이상의 아미노산들이 연결되어 있는 분자쇄를 가리킨다. 이 용어는 생성물의 특정 길이를 지칭하는 것이 아니다. 그러므로, "펩타이드" 및 "올리고펩타이드"는 폴리펩타이드 정의에 포함된다. 이 용어는 예컨대 글리코실화, 아세틸화, 인산화 등과 같은 폴리펩타이드의 번역후 변형을 포함한다. 이 용어는 또한 하나 이상의 아미노산 유사체 또는 비정규적인 또는 비천연 아미노산들이 공지의 단백질 조작 기술을 이용하여 합성되거나 재조합적으로 발현될 수 있는 것처럼 포함되어 있는 분자들도 포괄한다. 이에 더해, 단백질은 공지의 유기화학 기술에 의해 설명된 바와 같이 유도될 수도 있다.

[0122] [117] 본 명세서에서 "일차 T-세포 분석(primary T-cell assay)"이라 함은 인터페론 감마("IFN-감마") 발현을 측정하기 위한 시험관내 분석법을 가리킨다. 이러한 다양한 일차 T-세포 분석법은 실시예 6에 설명된 바와 같이 기술분야에 공지이다. 바람직한 구체예에서, 사용된 분석법은 항-CD3 공동고정화 분석법이다. 이 분석법에서, 일차 T 세포는 부가적인 재조합 단백질 존재 또는 부재 하에 고정된 항-CD3에 의해 자극된다. 배양 상등액을 대개 24-72시간 경과 시점에서 수확한다. 또 다른 구체예에서, 사용된 분석법은 혼합 림프구 반응(MLR)이다. 이 분석법에서 일차 T 세포들은 동종이형(allogenic) APC에 의해 자극된다. 배양 상등액은 대개 24-72 시간 경과 시점에서 수확된다. 배양 상등액 중 인간의 IFN-감마 수준을 표준 ELISA 기술로 측정한다. 납품업자로부터 상업용 키트를 구입할 수 있으며 제조업자의 권장 지침에 따라 분석을 수행하면 된다.

[0123] [118] 본 발명의 핵산 또는 면역조절 단백질에 적용되는 바와 같은 "정제된(purified)"이라는 용어는 일반적으로 기술 분야에 잘 알려진 분석 기술에 의해 탐지되는 다른 성분들이 실제로 없는 핵산 또는 폴리펩타이드를 의미한다(예컨대, 정제된 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드는 전기영동 겔, 크로마토그래피 유출물, 및/또는 밀도구배 원심분리 처리되는 매질에서 불연속 밴드를 형성한다). 예컨대, 전기영동 겔에서 기본적으로 하나의 밴드로 나타나는 핵산 또는 폴리펩타이드는 "정제"된 것이다. 본 발명의 정제된 핵산 또는 면역조절 단백질은 적어도 약 50% 순수하고, 대체로 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 99% 또는 그 이상 순수한 것이다(예컨대 중량 백분율 또는 몰 기준임).

[0124] [119] "재조합(recombinant)"이라는 용어는 물질(예컨대 핵산 또는 폴리펩타이드)이 인간의 개체로 인해 인공적으로(즉, 비-자연적으로) 변경되었음을 가리킨다. 이러한 변경은 그의 자연 환경 또는 상태 내의 물질에 대해 수행되거나 또는 자연 환경 또는 상태로부터 제거될 수 있다. 예를 들어, "재조합 핵산"은 예컨대 클로닝, 친화성 변형, DNA 서플링 또는 기타 공지의 분자생물학적 과정이 일어나는 동안 핵산을 재조합적으로 조작함으로써 만들어지는 것이다. "재조합 DNA 분자"는 이러한 분자생물학적 기술 수단에 의해 함께 연결된 DNA의 세그먼트들로 이루어진다. 본 명세서에서 "재조합 단백질" 또는 "재조합 폴리펩타이드"라 함은 재조합 DNA 분자를 이용하여 발현되는 단백질 분자(예컨대, 면역조절 단백질)이다. "재조합 숙주 세포"는 재조합 핵산을 함유 및/또는 발

현하는 세포이다. 진핵생물 중의 전사 조절 시그널은 "프로모터"와 "인핸서" 요소를 포함한다. 프로모터 및 인핸서는 전사에 관여하는 세포상 단백질과 특이적으로 상호반응하는 DNA 서열들의 짧은 어레이로 구성된다. 프로모터 및 인핸서 요소들은 효모, 곤충 및 포유동물 세포를 비롯한 다양한 진핵생물 소스 및 바이러스로부터 분리된 바 있다(유사 조절 요소, 즉 프로모터들은 원핵세포에서도 발견된다). 특정한 프로모터 및 인핸서의 선택은 목적하는 단백질을 발현시키기 위해 어떠한 세포 유형을 이용할 것인지에 의해 좌우된다. 본 명세서에서 "작동 가능한 조합으로(in operable combination)," "작동가능한 순서로(in operable order)" 및 "작동가능하게 연결된(operably linked)"이라는 용어들은 목적하는 단백질 분자의 합성 및/또는 주어진 유전자의 전사를 지시할 수 있는 핵산 분자가 생산되는 방식으로 또는 그러한 배열로 이루어진 핵산 서열의 결합(linkage)을 가리킨다. 이 용어는 또한 기능성 단백질이 생산 및/또는 전달되는 방식으로 이루어진 아미노산 서열의 결합을 가리키기도 한다.

[0125] [120] 본 명세서에서 "제조합 발현 벡터"라 함은 목적하는 특정 숙주 세포에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 적절한 핵산 서열 및 코딩 서열(예컨대 번역조절 핵산)을 함유하는 DNA 분자를 가리킨다. 원핵세포에서의 발현에 필요한 핵산 서열들에는 프로모터, 임의로 오퍼레이터 서열, 리보솜 결합 부위 및 가능하게는 기타 서열들이 포함된다. 진핵 세포들은 프로모터, 인핸서 그리고 종결 및 폴리아데닐화 시그널을 이용하는 것으로 알려져 있다. 분비 시그널 펩타이드 서열은 또한 임의로, 본 발명의 제조합 융합 단백질의 코딩 서열에 작동적으로 연결된 제조합 발현 벡터에 의해 인코딩될 수 있음으로 해서, 발현된 융합 단백질은, 소망되는 경우 숙주 세포로부터 융합 단백질의 보다 용이한 단리가 가능하도록, 제조합 숙주 세포에 의해 분비될 수 있다.

[0126] [121] 본 명세서에서 "서열 동일성(sequence identity)"이라 함은 각각 뉴클레오타이드 또는 아미노산 수준에서 유전자들 또는 단백질들 간의 서열 동일성을 가리킨다. "서열 동일성"은 뉴클레오타이드 수준에서 핵산들 간의 동일성의 척도이자 아미노산 수준에서의 단백질들 간의 동일성의 척도이다. 단백질 서열 동일성은 아미노산 서열들이 정렬된 경우 각 서열들에 있어서의 주어진 위치에서 아미노산 서열을 비교함으로써 알아낼 수 있다. 마찬가지로, 핵산 서열 동일성은 뉴클레오타이드 서열들이 정렬된 경우 각 서열에서의 주어진 위치에서 뉴클레오타이드 서열을 비교함으로써 알아낼 수 있다. 비교를 위한 서열의 정렬 방법은 기술 분야에 잘 알려져 있으며, 이러한 방법으로는 GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA 및 TFASTA를 들 수 있다. BLAST 알고리즘은 퍼센트 서열 동일성을 산출하는데 2개의 서열들 간의 유사성을 통계적으로 분석한다. BLAST 분석법을 수행하는 소프트웨어는 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 웹사이트를 통해 공공연히 입수가능하다.

[0127] [122] 본 명세서에서 단백질과 관련하여 "가용성(soluble)"이라 함은, 그 단백질이 막 단백질이 아님을 의미한다. 일반적으로, 가용성 단백질은 IgSF 패밀리의 멤버 수용체의 세포외 도메인만을, 또는 IgSF 도메인 또는 도메인들을 함유하는 그의 일부 또는 그의 특이적-결합 단편만을 독점적으로 함유한다.

[0128] [123] 핵산 서열 또는 폴리펩타이드 서열과 관련하여 본 명세서에서 "종(species)"이라 함은 그러한 서열들의 동일한 집합(collection)을 가리킨다. 아미노-말단 또는 카르복시-말단에서 1, 2 또는 3개의 아미노산 잔기 만큼만 전장 종과 차이가 나는(또는 상이함을 인코딩하는) 약간 트렁케이트된(slightly truncated) 서열들은 단일 종의 것으로 간주된다. 이러한 미세한 이질성은 제조된 단백질들에 있어서 흔한 속성이다.

[0129] [124] 본 명세서에서 "특이적으로 결합하다"라는 표현은, 특이적인 결합 조건 하에서, 충분한 통계적 크기를 갖는 무작위적인 펩타이드 또는 폴리펩타이드의 집합체에 대한 동일 단백질의 평균적인 친화성이나 결합능에 비해, 그의 친화성 또는 결합능이 적어도 10배, 임의로 50, 100, 250 또는 500배, 심지어 적어도 1000배 더 커지는, 표적 단백질에 대한 단백질의 결합 능력을 의미한다. 특이적으로 결합하는 단백질은 단일 표적 분자(예컨대 그의 동족 결합 파트너)에만 결합할 필요는 없으며 표적과 비-표적(예컨대 파라로그(유사성:paralogs) 또는 오솔로그(이종상동성:orthologs)) 사이의 구조적 배열의 유사성으로 인해, 비-표적 분자에도 특이적으로 결합할 수 있다. 통상의 기술자라면 상이한 동물종에서 동일한 기능을 갖는 분자에 대한 특이적 결합(즉 오솔로그) 또는 표적 분자와 실질적으로 유사한 에피토프를 갖는 비-표적 분자에 대한 특이적 결합(예컨대, 파라로그)이 가능함과 독특한 비-표적(예컨대 무작위적인 폴리펩타이드)의 통계적으로 합당한 집합에 대해 상대적으로 구해지는 결합의 특이성과 상충하지 않는다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 본 발명의 친화성 변형된 폴리펩타이드는 교차-반응성으로 인해, 표적 분자의 두 개 이상의 상이한 종들과 특이적으로 결합할 수도 있다. 일반적으로, 이러한 과녁을 벗어난(off-target) 특이적 결합은 원치 않는 표적에 대한 친화성 또는 결합능을 감소시킴으로써 완화된 다. 2개의 단백질들 간의 특이적 결합을 알아내기 위해 고체상 ELISA 면역분석법 또는 Biacore 측정을 이용할 수 있다. 일반적으로, 2개의 결합 단백질들 간의 상호반응들의 해리 상수(Kd)는 1×10^{-5} M 미만이고, 흔히 1

$\times 10^{-12}$ M 정도로 낮다. 본 발명의 특정 측면에서, 2개의 결합 단백질들 간의 상호반응의 해리 상수는 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M 또는 1×10^{-11} M이다.

[0130] [125] 본 명세서에서 성숙한 (즉, 시그널 펩타이드가 부재하는) 야생형 IgSF 도메인과 관련하여 "특이적 결합 단편" 또는 "단편"이라 함은 성숙한 전장 IgSF 도메인보다 짧으면서 성숙한 야생형 IgSF 도메인'의 천연 동족 결합 파트너와 시험관내 및/또는 생체내에서 특이적으로 결합하는 폴리펩타이드를 의미한다. 일부 구체예에서, 특이적 결합 단편은 성숙한 전장 야생형 서열의 서열 길이의 적어도 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 길이를 갖는다. 본 발명의 친화성 변형된 IgSF 도메인을 형성하도록, 특이적인 결합 단편의 서열을 변경시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 특이적인 결합 단편은 림프구의 면역학적 활성을 조절한다.

[0131] [126] 본 명세서에서 "억제된" 또는 "감소된"이라는 표현은 통계적으로 유의한 양만큼 감소하는 것을 의미한다. 일부 구체예에서 억제는 적어도 10%, 및 최대 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%의 감소일 수 있다.

[0132] [127] 본 명세서에서 "표적화 모이어티(targeting moiety)"라 함은 본 발명의 친화성 변형된 IgSF 도메인 및/또는 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 폴리펩타이드에 공유 또는 비공유적으로 결합하거나, 상기 폴리펩타이드를 물리적으로 내포하는(encapsulates) 조성물을 가리킨다. 표적화 모이어티는 세포 표면 수용체와 같은 목적하는 동족 결합 파트너 또는 종양 특이 항원 (tumor specific antigen: TSA) 또는 종양 관련 항원(tumor associated antigen: TAA)과 같은 종양 항원에 대해 특이적인 결합 친화성을 갖는다. 일반적으로, 목적하는 동족 결합 파트너는 특이적인 조직 또는 세포-유형 상에 위치한다. 표적화 모이어티에는: 항체, 항원 결합 단편(Fab), V_H 및 V_L 를 함유하는 가변 단편(Fv), 하나의 사슬 내에 V_H 및 V_L 을 함께 연결한 채로 함유하는 단일사슬 가변 단편(scFv) 및 그 밖의 항체 V 영역 단편들, 예컨대 Fab', $F(ab)_2$, $F(ab')_2$, dsFv 다이아바디, 나노바디, 가용성 수용체들, 수용체 리간드들, 성숙한 친화성 수용체들 또는 리간드들, 그리고 소형 분자 (<500 dalton) 조성물 (예컨대, 특이 결합 수용체 조성물)이 포함된다. 표적화 모이어티는 또한 본 발명의 면역조절 폴리펩타이드를 내포하는 리포솜의 지질 막에 공유적으로 또는 비공유적으로 결합할 수도 있다.

[0133] [128] 본 명세서에서 질병 또는 장애와 관련하여 "치료하는", "치료" 또는 "치료법"이라는 용어는 본 발명의 면역조절 단백질을 단독으로 또는 본 명세서에 설명된 다른 화합물과 조합 투여함으로써 임상적 또는 진단적 증상의 감소, 중단 또는 제거에 의해 입증되는 바와 같이 질병 또는 장애의 진행을 둔화, 중단 또는 역전시키는 것을 의미한다. "치료하는", "치료" 또는 "치료법"은 또한 급성 또는 만성 질병 또는 장애에 있어서 증상의 위중도의 감소 또는 자가면역 질환의 염증 측면에서 염증의 감소 또는 자가면역 질환 경과의 재발 또는 감퇴 (remitting)의 경우 재발율의 감소를 의미하기도 한다. 본 명세서에서 암과 관련하여 암을 "치료" 또는 "억제하다", "억제하는" 또는 "억제"라는 의미는: 종양 성장 속도의 통계적으로 유의한 감소, 종양 성장의 중단, 또는 Response Evaluation Criteria for Solid Tumors(RECIST)와 같은 표준 기준법(그러나 이에 한정되지 않음)에 의해 측정되는 바와 같은, 종양의 크기, 질량, 대사 활성 또는 볼륨의 감소, 또는 무진행 생존(PFS: progression free survival) 또는 전체적인 생존(OS: overall survival)의 통계적으로 유의적인 증가 중 적어도 하나를 가리킨다. 본 발명의 문맥 상 본 명세서에서 질병 또는 장애와 관련하여 "예방하다", "예방 (prophylaxis, 또는 prevention)"의 의미는 본 발명의 면역조절 단백질을 단독으로 또는 다른 화합물과 조합하여, 투여하는 것을 의미한다. 질병 또는 장애 또는 질병 또는 장애의 증상의 일부 또는 전부의 개시 또는 발생을 방지하거나 또는 질병 또는 장애의 개시 가능성을 경감시키는 것을 의미한다.

[0134] [129] 본 명세서에서 "종양 특이 항원(tumor specific antigen)" 또는 "TSA"라 함은 포유동물 대상자의 종양 세포에 주로 존재하지만 포유동물 대상자의 정상 세포에서는 일반적으로 발견되지 않는 항원을 가리킨다. 종양 특이 항원은 종양 세포에 대해서만 배타적일 필요는 없으나 종양 특이 항원을 갖는 특정 포유동물 세포의 백분율은 충분히 높거나 또는 종양 표면에 대한 종양 특이 항원의 수준은 충분히 높아서 본 발명의 면역조절 폴리펩타이드와 같은 항-종양 요법에 의해 표적화될 수 있고, 종양의 효과로부터 포유동물의 예방 또는 치료가 제공된다. 일부 구체예에서, 종양이 있는 포유동물로부터의 세포의 무작위 통계 표본에서, TSA를 나타내는 세포들의 적어도 50%는 암세포이다. 또 다른 구체예에서, TSA를 나타내는 세포들의 적어도 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99%는 암세포이다.

[0135] [130] 본 명세서에서, "스크리닝"은 분자들의 집합체 또는 라이브러리 및/또는 그의 일부로부터, 분자 또는 그의 일부의 활성 또는 속성의 탐지에 기초하여, 분자 또는 그의 일부를 동정 또는 선택하는 것을 가리킨다. 스크

리닝은 다양한 방식으로 수행가능하며, 이의 예로는 표적 단백질에 대한 분자의 직접 결합(예컨대 결합 친화성)을 평가하는 분석법 또는 표적 단백질의 활성 조절을 평가하는 기능적 분석법을 들 수 있다.

[0136] [131] 본 명세서에서 핵산 분자, 단백질, IgSF 멤버, 숙주 세포 등과 같은 생물학적 물질과 관련하여 "야생형" 또는 "천연" 또는 "천연의" 또는 "친(親)(parental)" 등의 용어가 사용될 경우, 상기 용어들은 자연에서 발견되는 것들 또는 인간 개체에 의하여 변형된 것이 아닌 것들을 가리킨다. 야생형 IgSF 도메인은 비-친화성 변형된 IgSF 도메인의 한 종류이다 본 발명의 면역 조절 단백질의 몇몇 구체PDp서, 비-친화성 변형된 IgSF는 야생형 IgSF 도메인이다.

[0137] II. 친화성-변형된 면역조절 단백질

[0138] [132] 본 발명은 면역계 반응의 조절이 이로운 질병 또는 장애를 갖는 포유동물에서 면역학적 활성을 조절함으로써 치료적 유용성을 갖는 면역조절 단백질을 제공한다.

[0139] [133] 포유동물 또는 포유동물 기원의 항체(즉, 면역글로불린들)은 본 발명의 면역조절 단백질 범위에 포함되는 IgSF 패밀리를 멤버들로부터 배제된다. 그러므로, 본 발명은 비-면역글로불린(즉, 비-항체) IgSF 도메인들에 관한 것이다. 면역글로불린(즉, 항체)이 아닌 야생형 포유동물의 IgSF 패밀리를 멤버들이 기술분야에 알려져 있으며 이들의 핵산 및 아미노산 서열도 알려져 있다. 모든 비-면역글로불린 포유동물 IgSF 패밀리를 멤버들이 본 발명의 범위에 포함된다.

[0140] [134] 일부 구체예에서, 비-면역글로불린 IgSF 패밀리를 멤버들, 및 그에 존재하는 대응하는 IgSF 도메인들은 마우스, 래트, 시노물구스 원숭이, 또는 인간으로부터 기원한다. 일부 구체예에서, IgSF 패밀리를 멤버들은 시그널-조절 단백질(SIRP) 패밀리를, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체(TREML) 패밀리를, 암배아 항원-관련 부착 분자(CEACAM) 패밀리를, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴(SIGLEC) 패밀리를, 부티로필린 패밀리를, B7 패밀리를, CD28 패밀리를, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유(VSIG) 패밀리를, V-세트 막통과 도메인(VSTM) 패밀리를, 주요조직항복합체(MHC) 패밀리를, 시그널링 림프구 활성화 분자(SLAM) 패밀리를, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체(LIR), 넥틴(Nec) 패밀리를, 넥틴-유사(NECL) 패밀리를, 폴리오마바이러스 수용체 관련(PVR) 패밀리를, 천연 세포독성 격발 수용체(NCR) 패밀리를, T 세포면역글로불린 및 뮤신(TIM) 패밀리를 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들(KIR) 패밀리와 같은 적어도 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 IgSF 서브패밀리를 멤버들이다.

[0141] [135] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역조절 단백질의 비-면역글로불린 IgSF 패밀리를 멤버들, 및 그 내부에 존재하는 대응하는 IgSF 도메인들은 포유동물의 IgSF 멤버에 비해 친화성-변형된 것이다. 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 멤버는 IgSF 멤버들 중 하나이거나 또는 그의 포유동물 오솔로그들을 비롯한 표 1에 표시된 IgSF 멤버들 중 하나로부터의 IgSF 도메인을 포함한다. 오솔로그는 상이한 종들에서, 종분화(speciation)에 의해, 공통의 조상 유전자로부터 진화된 유전자이다. 일반적으로, 오솔로그는 진화 과정 중 동일한 기능을 유지한다.

[0142] [136] 표 1의 첫 번째 컬럼에는 특정 IgSF 멤버의 명칭 및 임의로 그에 대한 가능한 몇몇 동의어 명칭이 기재되어 있다. 두 번째 컬럼에는 인터넷 uniprot.org을 통해 접근가능한 공개된 데이터베이스인 UniProtKB 데이터베이스의 단백질 동정자(identifier)가 기재되어 있다. Universal Protein Resource(UniProt)는 단백질 서열 및 주석 데이터의 광범한 자원이다. UniProt 데이터베이스는 UniProt Knowledgebase(UniProtKB)를 포함한다. UniProt은 European Bioinformatics Institute(EMBL-EBI), SIB Swiss Institute of Bioinformatics 및 the Protein Information Resource(PIR) 간의 협업물로서 U.S. National Institutes of Health(NIH)로부터 주로 인가받고 있다. 세 번째 컬럼은 표시된 IgSF 도메인이 위치하는 영역을 제공한다. 이 영역은 도메인이 포함된 범위를 정의하는 잔기들의 범위로서 명시된다. 컬럼 3은 또한 명시된 IgSF 영역에 대한 IgSF 도메인 클래스도 가리킨다. 컬럼 4는 표시된 부가적인 도메인들이 위치하는 영역을 나타낸다(시그널 펩타이드, S; 세포외 도메인, E; 막통과 도메인, T; 세포질 도메인, C). 컬럼 5는 수록된 IgSF 멤버들의 일부, 그의 동족 세포 표면 결합 파트너들의 일부를 나타낸다.

[0143] [137] 일반적으로, 제공된 구체예들의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 인간 또는 쥐의 친화성 변형된 IgSF 도메인이다.

표 1. 본 발명에 따른 IgSF 멤버들.

IgSF 멤버 (동의어)	UniProtKB 단백질 동정자	IgSF 영역 & 도메인 클래스	다른 도메인들	동족 세포 표면 결합 파트너들	IgSF 멤버 아미노산 서열 (SEQ ID NO)	
					전구체 (성숙한 잔기들)	ECD
CD80 (B7-1)	NP_005182. 1 P33681	35-138 또는 37-138 IgV, 145-230 또는 154-232 IgC	S: 1-34, E: 35-242, T: 243-263, C: 264-288	CD28, CTLA4, PD-L1	SEQ ID NO: 1 (35-288)	SEQ ID NO: 28
CD86 (B7-2)	P42081.2	33-131 IgV, 150-225 IgC2	S: 1-23, E: 24-247, T: 248-268, C: 269-329	CD28, CTLA4	SEQ ID NO: 2 (24-329)	SEQ ID NO: 29
CD274 (PD-L1, B7-H1)	Q9NZQ7.1	24-130 IgV, 133-225 IgC2	S: 1-18, E: 19-238, T: 239-259, C: 260-290	PD-1, B7-1	SEQ ID NO: 3 (19-290)	SEQ ID NO: 30
PDCD1LG2 (PD-L2, CD273)	Q9BQ51.2	21-118 IgV, 122-203 IgC2	S: 1-19, E: 20-220, T: 221-241, C: 242-273	PD-1, RGMb	SEQ ID NO: 4 (20-273)	SEQ ID NO: 31
ICOSLG (B7RP1, CD275, ICOSL, B7- H2)	O75144.2	19-129 IgV, 141-227 IgC2	S: 1-18, E: 19-256, T: 257-277, C: 278-302	ICOS, CD28, CTLA4	SEQ ID NO: 5 (19-302)	SEQ ID NO: 32
CD276 (B7-H3)	Q5ZPR3.1	29-139 IgV, 145-238 IgC2, 243-357 IgV, 367-453 IgC	S: 1-28, E: 29-466, T: 467-487, C: 488-534		SEQ ID NO: 6 (29-534)	SEQ ID NO: 33
VTCN1 (B7-H4)	Q7Z7D3.1	35-146 IgV, 153-241 IgV	S: 1-24, E: 25-259, T: 260-280, C: 281-282		SEQ ID NO: 7 (25-282)	SEQ ID NO: 34
CD28	P10747.1	28-137 IgV	S: 1-18, E: 19-152, T: 153-179, C: 180-220	B7-1, B7-2, B7RP1	SEQ ID NO: 8 (19-220)	SEQ ID NO: 35
CTLA4	P16410.3	39-140 IgV	S: 1-35, E: 36-161, T: 162-182, C: 183-223	B7-1, B7-2, B7RP1	SEQ ID NO: 9 (36-223)	SEQ ID NO: 36

[0144]

표 1. 본 발명에 따른 IgSF 멤버들.

IgSF 멤버 (동의어)	UniProtKB 단백질 동정자	IgSF 영역 & 도메인 클래스	다른 도메인들	동족 세포 표면 결합 파트너들	IgSF 멤버 아미노산 서열 (SEQ ID NO)	
					전구체 (성숙한 잔기들)	ECD
PDCD1 (PD-1)	Q15116.3	35-145 IgV	S: 1-20, E: 21-170, T: 171-191, C: 192-288	PD-L1, PD-L2	SEQ ID NO: 10 (21-288)	SEQ ID NO: 37
ICOS	Q9Y6W8.1	30-132 IgV	S: 1-20, E: 21-140, T: 141-161, C: 162-199	B7RP1	SEQ ID NO: 11 (21-199)	SEQ ID NO: 38
BTLA (CD272)	Q7Z6A9.3	31-132 IgV	S: 1-30, E: 31-157, T: 158-178, C: 179-289	HVEM	SEQ ID NO: 12 (31-289)	SEQ ID NO: 39
CD4	P01730.1	26-125 IgV, 126-203 IgC2, 204-317 IgC2, 317-389 IgC2	S: 1-25, E: 26-396, T: 397-418, C: 419-458	MHC 클래스 II	SEQ ID NO: 13 (26-458)	SEQ ID NO: 40
CD8A (CD8- alpha)	P01732.1	22-135 IgV	S: 1-21, E: 22-182, T: 183-203, C: 204-235	MHC 클래스 I	SEQ ID NO: 14 (22-235)	SEQ ID NO: 41
CD8B (CD8-beta)	P10966.1	22-132 IgV	S: 1-21, E: 22-170, T: 171-191, C: 192-210	MHC 클래스 I	SEQ ID NO: 15 (22-210)	SEQ ID NO: 42
LAG3	P18627.5	37-167 IgV, 168-252 IgC2, 265-343 IgC2, 349-419 IgC2	S: 1-28, E: 29-450, T: 451-471, C: 472-525	MHC 클래스 II	SEQ ID NO: 16 (29-525)	SEQ ID NO: 43
HAVCR2 (TIM-3)	Q8TDQ0.3	22-124 IgV	S: 1-21, E: 22-202, T: 203-223, C: 224-301	CEACAM-1, 포스파티딜세 린, 갈렉틴-9, HMGB1	SEQ ID NO: 17 (22-301)	SEQ ID NO: 44
CEACAM1	P13688.2	35-142 IgV, 145-232 IgC2, 237-317 IgC2, 323-413 IgC	S: 1-34, E: 35-428, T: 429-452, C: 453-526	TIM-3	SEQ ID NO: 18 (35-526)	SEQ ID NO: 45
TIGIT	Q495A1.1	22-124 IgV	S: 1-21, E: 22-141, T: 142-162, C: 163-244	CD155, CD112	SEQ ID NO: 19 (22-244)	SEQ ID NO: 46

[0145]

표 1. 본 발명에 따른 IgSF 멤버들.

IgSF 멤버 (동의어)	UniProtKB 단백질 동정자	IgSF 영역 & 도메인 클래스	다른 도메인들	동족 세포 표면 결합 파트너들	IgSF 멤버 아미노산 서열 (SEQ ID NO)	
					친구체 (성숙한 장기들)	ECD
PVR (CD155)	P15151.2	24-139 IgV, 145-237 IgC2, 244-328 IgC2	S: 1-20, E: 21-343, T: 344-367, C: 368-417	TIGIT, CD226, CD96, 폴리오바이러 스	SEQ ID NO: 20 (21-417)	SEQ ID NO: 47
PVRL2 (CD112)	Q92692.1	32-156 IgV, 162-256 IgC2, 261-345 IgC2	S: 1-31, E: 32-360, T: 361-381, C: 382-538	TIGIT, CD226, CD112R	SEQ ID NO: 21 (32-538)	SEQ ID NO: 48
CD226	Q15762.2	19-126 IgC2, 135-239 IgC2	S: 1-18, E: 19-254, T: 255-275, C: 276-336	CD155, CD112	SEQ ID NO: 22 (19-336)	SEQ ID NO: 49
CD2	P06729.2	25-128 IgV, 129-209 IgC2	S: 1-24, E: 25-209, T: 210-235, C: 236-351	CD58	SEQ ID NO: 23 (25-351)	SEQ ID NO: 50
CD160	O95971.1	27-122 IgV	N/A	HVEM, MHC 단백질 패밀리	SEQ ID NO: 24 (27-159)	SEQ ID NO: 51
CD200	P41217.4	31-141 IgV, 142-232 IgC2	S: 1-30, E: 31-232, T: 233-259, C: 260-278	CD200R	SEQ ID NO: 25 (31-278)	SEQ ID NO: 52
CD200R1 (CD200R)	Q8TD46.2	53-139 IgV, 140-228 IgC2	S: 1-28, E: 29-243, T: 244-264, C: 265-325	CD200	SEQ ID NO: 26 (29-325)	SEQ ID NO: 53
NCR3 (NKp30)	O14931.1	19-126 IgC-like	S: 1-18, E: 19-135, T: 136-156, C: 157-201	B7-H6	SEQ ID NO: 27 (19-201)	SEQ ID NO: 54

[138] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역조절 단백질은 적어도 하나의 친화성 변형된 포유동물 IgSF 도메인을 포함한다. 친화성 변형된 IgSF 도메인은 단수 또는 복수개(2, 3, 4, 또는 그 이상)의 동족 결합 파트너들 ("카운터 구조 리간드"라고도 칭해짐)에 특이적으로 결합하도록 친화성 변형될 수 있다. IgSF 도메인은 그것이 결합하는 복수의 동족 결합 파트너들 각각에 대한 특이적인 결합 친화성 또는 결합능을 독립적으로 증가 또는 감소시키도록 친화성 변형될 수 있다. 이 메커니즘에 의해, 복수개의 동족 결합 파트너들 각각에 대한 특이적인 결합이 특정 친화성 또는 결합능으로 독립적으로 조율된다.

[139] 일부 구체예에서, IgSF 도메인의 동족 결합 파트너는 표 1에 수록된 것과 같은, 야생형 IgSF 도메인의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나 및 때때로 적어도 2개 또는 3개이다. 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 IgSF 도메인의 서열은 적어도 하나의 치환, 부가 또는 결실에 의해 그 서열이 변경됨으로써 친화성 변형된다. 서열의 변경은 동족 결합 파트너의 결합 부위 또는 알로스테릭(allosteric) 부위에서 일어날 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 핵산을 만들기 위해, 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 IgSF 도메인을 인코딩하는 핵산을, 특이적인 미리 정해진 뉴클레오타이드 부위를 치환, 부가, 결실 또는 이들의 조합 처리에 의해 친화성을 변형시킨다. 몇몇 대조적인 구체예에서, 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 IgSF 도메인을 인코딩하는 핵산은 핵산 내 무작위적인 부위에서 치환, 부가, 결실 또는 이들의 조합 처리에 의해 친화성 변형된다. 일부 구체예에서는, 2가지 접근법(미리 정해진, 그리고 무작위)의 조합이 이용된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 가상 환경에서(in silico) 수행된다.

[140] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 IgC 도메인 또는 IgV 도메인 또는 IgC 도메인의 특이적인 결합 단편과 같은 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 함유하는 야생형 또는 비변형 폴리펩타이드 또는 그의 일부에 비해 아미노산 치환(달리, "돌연변이(mutations)" 또는 "대체(replacements)")

을 하나 이상 함유한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 아미노산 치환들 중 적어도 하나가 IgV 도메인이나 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에서 일어난 것인, IgV 도메인이나 IgC인 결합 단편들을 함유하는 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 변경된 결합 활성 또는 친화성 덕분에, IgV 도메인 또는 IgC 도메인은 친화성-변형된 IgSF 도메인이다.

[0150] [141] 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 IgSF 도메인은 그 서열이 하나 이상 그러나 최대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개의 아미노산이 치환, 부가, 결실 또는 이들의 조합을 갖는, 친화성 변형된 것이다. 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 IgSF 도메인은 그 서열이 하나 이상 그러나 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 또는 2개 이하의 아미노산 치환을 갖는, 친화성 변형된 것이다. 일부 구체예에서, 치환은 보존적 치환이다. 일부 구체예에서, 치환은 비-보존적인 것이다. 일부 구체예에서, 치환은 보존적 치환과 비-보존적 치환의 조합이다. 일부 구체예에서, 서열의 변형은 그의 동족 결합 파트너에 대한 IgSF 도메인의 결합 부위에서 만들어진다.

[0151] [142] 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 포유동물의 IgSF 도메인이다. 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 비제한적인 예로서 인간, 마우스, 시노물구스 원숭이 또는 래트의 IgSF 도메인일 수 있다. 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 인간의 것이다.

[0152] [143] 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 SEQ ID NO:1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열 또는 시그널 서열이 결합된 그의 성숙한 형태, SEQ ID NO:1-27에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열 또는 그의 성숙한 형태에 함유된 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편이거나, 또는 IgV 도메인이나 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 함유하는 그의 일부이다.

[0153] [144] 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 IgSF 패밀리의 멤버의 세포외 도메인이거나 또는 IgSF 도메인을 함유하는 그의 일부이거나 또는 이를 포함한다 (예컨대 IgV 도메인 또는 IgC 도메인). 일부 구체예에서, 변형되지 않은 또는 야생형 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS:28-54 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열 또는 그의 오솔로그를 포함한다. 예컨대, 변형되지 않은 또는 야생형 IgSF 도메인은 (i) SEQ ID NOS:28-54 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열, (ii) SEQ ID NOS: 28-54의 어느 하나에 대해 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있거나, 또는 (iii) SEQ ID NOS: 28-54 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열의 특이적인 결합 단편 또는, IgV 도메인 또는 IgC 도메인을 포함하는 SEQ ID NOS: 28-54 중 어느 하나에 대해 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열의 특이적인 결합 단편이다.

[0154] [145] 일부 구체예에서, 변형되지 않은 또는 야생형 IgSF 도메인의 세포외 도메인은 예컨대 IgV 도메인 및 IgC 도메인과 같은 IgSF 도메인을 두 개 이상 포함할 수 있다. 그러나, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인과 IgC 도메인의 두 가지를 모두 포함할 필요는 없다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하나 또는 기본적으로 이들로 구성된다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편, 및 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함한다.

[0155] [146] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인의 하나 이상의 아미노산 치환은 IgSF 폴리펩타이드 도메인들 중 하나 이상에 위치할 수 있다. 예컨대, 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 IgSF 폴리펩타이드의 세포외 도메인 내에 위치한다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 IgV 도메인 또는 IgV 도메인의 특이적인 결합 단편 내에 위치한다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 IgC 도메인 또는 IgC 도메인의 특이적인 결합 단편 내에 위치한다.

[0156] [147] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질의, 포유동물의 IgSF 도메인과 같은 적어도 하나의 IgSF 도메인은, SEQ ID NOS: 1-27과 같이, 표 1에 개시된 것과 같은 (그러나 이에 한정되지 않음) 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 단백질 또는 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 단백질에 함유된 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90%, 89%, 88%, 87%, 86%, 85%, 또는 80% 서열 동일성을 갖도록 그 서열이 독립적으로 친화성 변형된다.

[0157] [148] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질의 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1-27에서 표 1에 개시된 것들(그러나 이에 한정되지 않음)과 같이, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 단백질에 함유된 야생형 또는

변형되지 않은 IgSF 도메인의 특이적 결합 단편이다. 일부 구체예에서, 특이적 결합 단편의 아미노산 길이는 적어도 50 아미노산, 예컨대 적어도 60, 70, 80, 90, 100, 또는 110 아미노산일 수 있다. 일부 구체예에서, IgV 도메인의 특이적 결합 단편은 야생형 또는 변형되지 않은 IgV 도메인의 길이의 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%에 해당하는 아미노산을 함유한다. 일부 구체예에서, IgC 도메인의 특이적 결합 단편은 야생형 또는 변형되지 않은 IgC 도메인의 길이의 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%에 해당하는 아미노산을 함유한다. 일부 구체예에서, 특이적 결합 단편은 면역학적 활성으로 조절한다. 보다 특이적인 구체예에서, IgSF 도메인의 특이적 결합 단편은 면역학적 활성을 증가시킨다. 또 다른 구체예에서, 특이적 결합 단편은 면역학적 활성을 감소시킨다.

[0158]

[149] 두 개의 핵산 서열들 또는 두 개의 아미노산들 간의 퍼센트 동일성을 알아보기 위해, 최적의 비교 목적을 위해 서열들을 정렬한다 (예컨대, 제2의 아미노산 또는 핵산 서열과의 최적의 정렬을 위해 제1 아미노산 또는 핵산 서열에 갭을 도입할 수 있다). 이어서, 대응하는 아미노산 위치 또는 뉴클레오타이드 위치에서 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드 잔기들을 비교한다. 제1 서열 내의 위치가 제2 서열의 대응하는 위치와 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드에 의해 점해진 경우, 이들 분자들은 그 위치에서 동일한 것이다. 이들 두 서열들 간의 퍼센트 동일성은 서열들이 공유하는 동일 위치의 갯수의 함수이다 (즉, % 동일성 = 동일 위치 갯수/총 위치 갯수 (예컨대 중복 위치) x 100). 일 구체예에서 이들 두 개의 서열의 길이는 동일하다. 일 구체예에서 2 개의 서열들의 길이는 동일하다. 서열들은 수동으로 정렬가능하고 동일한 핵산 또는 아미노산의 갯수를 셀 수 있다. 별법으로, 퍼센트 동일성을 구하기 위하여 두 개의 서열을 정렬시키는 것은 수학적 알고리즘을 이용하여 수행될 수도 있다. 이러한 알고리즘은 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 통합된다. 본 발명의 핵산 분자에 대한 뉴클레오타이드 서열 상동성을 구하기 위해, NBLAST 프로그램, 점수 = 100, 단어길이(wordlength) = 12로 BLAST 뉴클레오타이드 서치를 수행할 수 있다. 본 발명의 단백질 분자에 대한 아미노산 서열 상동성을 구하기 위해, XBLAST 프로그램, 점수 = 50, 단어길이 = 3으로 BLAST 단백질 서치를 수행할 수 있다. 비교 목적을 위한 갭형 (gapped) 정렬을 얻기 위해, Gapped BLAST를 이용할 수도 있다. 별법으로, 분자들 간의 원거리 관계를 검색하는 반복 서치를 수행하기 위해 PSI-Blast가 이용될 수도 있다. NBLAST, XBLAST, 및 Gapped BLAST 프로그램이 이용될 경우, NCBI 웹사이트 상에서 입수가 가능한 것과 같은 각각의 프로그램의 디폴트 변수들을 이용할 수 있다. 별법으로, 예컨대 BLST 프로그램에 의해 NCBI 데이터베이스 내에서 서열들을 정렬시킨 후에 서열 동일성을 계산할 수도 있다. 일반적으로, 예컨대 "점수 매트릭스" 및 "갭 페널티"와 관련한 디폴트 셋팅을 정렬에 이용할 수 있다. 본 발명의 맥락 상, BLASTN 및 PSI BLAST NCBI 디폴트 셋팅을 이용할 수 있다.

[0159]

[150] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 추가로 적어도 하나의 친화성 변형된 도메인을 함유하고 추가로 적어도 하나의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 (예컨대 변형되지 않은 또는 야생형 IgSF 도메인)을 함유한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 친화성 변형된 도메인들을 적어도 2개 함유한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 복수개의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 비-친화성 변형된 IgSF 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 함유할 수 있다.

[0160]

[151] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질에 존재하는 적어도 하나의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 및/또는 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 면역학적 시냅스(IS)를 형성하는 포유동물 세포 상에 발현되는 적어도 하나의 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합한다. 물론, 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 복수개의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들, 예컨대 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 비-친화성 변형된 IgSF 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함한다. 이들 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 하나 이상은 IS를 형성하는 포유동물 세포들 중 하나 또는 두 개 모두에 독립적으로 특이적으로 결합할 수 있다.

[0161]

[152] 종종, 친화성 변형된 IgSF 도메인이 특이적으로 결합하는 세포 표면 분자종들은 친화성 변형된 야생형 IgSF 도메인 또는 야생형 IgSF 패밀리 멤버의 동족 결합 파트너일 것이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 포유동물의 IgSF 멤버이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 인간 IgSF 멤버이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 표 1에 나타난 바와 같은 세포 표면 동족 결합 파트너들일 것이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 인간 세포와 같은 포유동물 세포의 세포 표면 상의, 폴리오마바이러스 단백질과 같은 바이러스 단백질일 것이다.

[0162]

[153] 일부 구체예에서, 본 명세서에 제공된 면역조절 단백질의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 IS를 형성하는 포유동물 세포 상에 존재하는 적어도 2개 또는 적어도 3개의 세포 표면 분자종들과 결합한다. 본 발명의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들이 특이

적으로 결합하는 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 하나 또는 다른 하나에만 배타적으로 존재하거나 (즉 시스 배열), 또는 별법으로, 상기 세포 표면 분자종들은 양자 모두에 존재할 수도 있다.

[0163] [154] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 2개의 세포 표면 분자종들(즉, 상기 분자종 중 하나는 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 하나에 존재하고 또 다른 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 두 번째 것에 존재하는 것인, 적어도 2개의 세포 표면 분자종들)과 특이적으로 결합한다. 비록 일부 구체예에서 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들 중 어느 한쪽에만 존재하기도 하지만, 이러한 구체예에서, 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포의 어느 하나 또는 다른 하나에만 배타적으로 존재할 필요는 없다 (즉 트랜스 배열). 따라서, 본 발명에 제시된 구체예들은 각 세포 표면 분자종들이 IS를 형성하는 포유동물 세포의 어느 하나 또는 다른 하나에만 배타적으로 존재하는 경우 (시스 배열)는 물론 각각의 친화성 변형된 IgSF와 결합하는 세포 표면 분자종들이 IS를 형성하는 포유동물 세포 두 가지 모두에 존재하는 경우 (즉, 시스 및 트랜스 배열)도 포함한다.

[0164] [155] 통상의 기술자라면 항원 제시 세포(APCs) 및 종양 세포들이 림프구들과 면역학적 시냅스를 형성함을 인식할 것이다. 그러므로, 일부 구체예에서, 면역조절 단백질의 적어도 하나의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 및/또는 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 암 세포 상에 존재하는 세포 표면 분자종들과만 특이적으로 결합하되, 여기서 상기 암 세포는 림프구와 연계하여 IS를 형성하는 것이다. 또 다른 구체예에서, 면역조절 단백질의 적어도 하나의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 및/또는 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 림프구 상에 존재하는 세포 표면 분자종들과만 특이적으로 결합하되, 여기서 상기 림프구는 APC 또는 종양 세포와 연계하여 IS를 형성하는 것이다. 일부 구체예에서, 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 림프구와 표적 세포(또는 APC) 양자 모두에 존재하는 세포 표면 분자종들과 결합한다.

[0165] [156] 본 발명의 구체예에는, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질이 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 (예컨대 포유동물의 IgSF 도메인)과는 상이한 아미노산 서열을 갖는 친화성 변형된 IgSF 도메인을 적어도 한 개 포함함으로써 해서, 특이적인 결합 조건 하에서 그의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대한 그의 결합 친화성(또는 만일 멀티머 또는 기타 관련 구조인 경우 결합능)이 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 대조군에 비해 증가 또는 감소된 것들을 포함한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 예컨대 고상 ELISA 면역분석법, 유세포분석법 또는 Biacore 분석법에 의해 탐지될 경우 동족 결합 파트너에 대하여 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 대조군 서열의 그것과는 다른 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, IgSF 도메인은 하나 이상의 동족 결합 파트너들에 대해 증가된 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에 비해, 하나 이상의 동족 결합 파트너들에 대해 감소된 결합 친화성을 갖는다. 일부 구체예에서, 동족 결합 파트너는 인간 단백질 또는 쥐의 단백질과 같은 포유동물 단백질일 수 있다.

[0166] [157] 각각의 동족 결합 파트너들에 대한 결합 친화성은 독립적이다; 즉, 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 또는 변형되지 않은 ICOSL 폴리펩타이드에 비해 한 개, 두 개 또는 세 개의 상이한 동족 결합 파트너들에 대하여 증가된 결합 친화성을 가지거나, 또는 한 개, 두 개 또는 세 개의 상이한 동족 결합 파트너들에 대하여 감소된 결합 친화성을 갖는다.

[0167] [158] 본 발명에 따라 제공된 면역조절 단백질의 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합 친화성 또는 결합능은 야생형 또는 변형되지 않은 대조군 IgSF 도메인에 비해 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 1000%, 5000%, 또는 10,000% 증가된 것이다. 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인과 비교시 결합 친화성은 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배 40배 또는 50배 이상 증가한 것이다.

[0168] [159] 일부 구체예에서, 결합 친화성 또는 결합능은 야생형 또는 변형되지 않은 대조군 IgSF 도메인에 비해 적어도 10%, 및 최대 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% 또는 최대 90% 감소된 것이다. 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에 비해 결합 친화성은 1.2배, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배 40배 또는 50배 이상 감소된 것이다.

[0169] [160] 일부 구체예에서, 동족 결합 파트너에 대한 친화성 변형된 IgSF 도메인의 특이적인 결합 친화성은 적어도 1×10^{-5} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-10} M 또는 1×10^{-11} M, 또는 1×10^{-12} M일 수 있다.

[0170] [161] 일부 구체예에서, 제공된 면역조절 단백질은 적어도 2개의 IgSF 도메인들을 포함하되, 상기 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 친화성 변형된 것이고, 일부 구체예에서는 두 가지 모두 친화성 변형된 것이며, 이 때 친화성

변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너에 대해 증가된 친화성(또는 결합능)을 가지고, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 동족 결합 파트너에 대해 감소된 친화성(또는 결합능)을 갖는다.

[0171] [162] 일부 구체예에서, 그렇지 않으면 다중 세포 표면 분자종들에 결합하는 IgSF 도메인은 그의 동족 세포 표면 분자종들 중 하나에 실질적으로 더 이상 특이적으로 결합하지 않도록 친화적으로 변형된다. 따라서, 이들 구체예에서 그의 동족 세포 표면 분자종들 중 하나에 대한 특이적인 결합은 야생형 수준의 특이적 결합의 10% 이하로, 종종 7%, 5%, 3%, 1% 이하로, 또는 검출 불가능하거나 통계적으로 유의한 특이적 결합이 아닌 수준으로 감소한다.

[0172] [163] 이러한 구체예에서, 포유동물의 IgSF 도메인 상의 특이적 결합 부위는 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 불활성화되거나 또는 실질적으로 불활성화된다. 따라서, 예를 들어, 만일 야생형 IgSF 도메인이 정확히 2개의 세포 표면 분자종들과 특이적으로 결합할 경우 일부 구체예에서, 그것은 정확히 하나의 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합하도록 친화성 변형된다 (그에 따라 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수를 셀 때, 실질적으로 면역학적으로 불활성인 그의 분획 서열은 무시된다). 또한, 만일 야생형 IgSF 도메인이 정확히 3개의 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합할 경우에는, 일부 구체예에서 그것은 정확히 2개의 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합하도록 친화성 변형된다. 그의 동족 세포 표면 분자종들 중 하나에 실질적으로 더 이상 특이적으로 결합하지 않는 친화력 변형된 IgSF 도메인은 경쟁적으로 또는 비-경쟁적으로 그의 세포 표면 분자종들에 결합하는 IgSF 도메인일 수 있다. 통상의 기술자라면, 그럼에도 불구하고, 예를 들어 이들의 결합 부위가 정확하게 동일 팽창성이 아니지만 단지 특이적으로 겹치기만 해서, 하나의 특이적 결합이 다른 동족 결합 파트너의 결합을 억제하지만, 두 개 모두의 경쟁적 결합 부위는 구별될 경우, 2개의 동족 결합 파트너들에 경쟁적으로 결합하는 야생형 IgSF 도메인이 정확히 그들 중 하나와 관련하여 불활성화 될 수 있음을 이해할 것이다.

[0173] [164] 제공된 면역조절 단백질의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 일부 구체예에서 그의 동족 세포 표면 분자종들에 특이적으로 경쟁적으로 결합할 수 있다. 또 다른 구체예에서 면역조절 단백질의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 그의 동족 세포 표면 분자종들에 특이적으로 비-경쟁적으로 결합한다. 제공된 면역조절 단백질 내에 존재하는 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 경쟁적으로 또는 비-경쟁적으로 특이적으로 결합할 수 있다.

[0174] [165] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 적어도 2개의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하거나, 또는 적어도 하나의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인과 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함하거나, 또는 적어도 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하되, 여기서 하나의 IgSF 도메인은 그의 동족 세포 표면 분자종들과 경쟁적으로 특이적으로 결합하고 두번째 IgSF 도메인은 그의 동족 세포 표면 분자종들과 비-경쟁적으로 특이적으로 결합하는 것이다. 보다 일반적으로, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 경쟁적으로 또는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 비-경쟁적으로 결합하는 비-친화성 변형된 IgSF 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들 또는 이들의 여하한 조합을 포함할 수 있다. 그러므로, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 비-경쟁적 및 경쟁적으로 결합하는 IgSF 도메인들을 각각 0 및 1, 0 및 2, 0 및 3, 0 및 4, 1 및 0, 1 및 1, 1 및 2, 1 및 3, 2 및 0, 2 및 1, 2 및 2, 2 및 3, 3 및 0, 3 및 1, 3 및 2, 3 및 3, 4 및 0, 4 및 1, 그리고, 4 및 2개씩 포함할 수 있다.

[0175] [166] 본 발명에서 제공되는 복수개의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들 면역조절 단백질은 서로 직접적으로 공유결합될 필요는 없다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 잔기들의 개재 스팬 (intervening span)은 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 서로에 대해 간접적으로 공유결합시킨다.

[0176] [167] 일부 구체예에서, 이러한 결합은 비-친화성 변형된 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 N-말단 또는 C-말단에 위치하지 않는 아미노산 잔기들의 측쇄를 경유하여 이루어질 수 있다. 따라서, 결합은 말단 또는 중간 부분의 아미노산 잔기 또는 이의 조합을 통해 만들어질 수 있다.

[0177] [168] 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 연결하는 "펩타이드 링커"는 그 길이가 단일 아미노산 잔기 또는 그 이상일 수 있다. 일부 구체예에서, 펩타이드 링커의 길이는 적어도 하나의 아미노산 잔기이지만, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1 아미노산 잔기 이하이다. 일부 구체예에서, 링커는 (단일 문자 아미노산 코드로 표기시): GGGGS ("4GS")이거나 또는 4GS 링커의 멀티머일 수 있다(즉, 4GS 링커들이 2, 3, 4, 또는 5개 반복됨). 또 다른 임의의 구체예에서는 면역조절 단백질이 공유적으로 연결된 Fc에 그리고 4GS 링커들 사이에 알라닌 잔기 시리즈가 끼어든다. 일부 구체예에서, 각 시리즈

즈의 알라닌 잔기의 갯수는: 2, 3, 4, 5, 또는 6개 알라닌이다.

[0178]

A. 예시적인 친화성 변형된 IgSF 도메인들

[0179]

[169] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 상기 표 1에 제시되어 있는 바와 같이, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 단백질의 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 갖는다. 하나 이상의 아미노산 치환은 세포외 도메인과 같은, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인의 엑토도메인 내에 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 IgV 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에 존재할 수 있다. 친화성 변형된 IgSF 도메인의 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 치환들 중 몇몇은 IgV 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에 존재하고, 하나 이상의 아미노산 치환들 중 몇몇은 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에 존재한다.

[0180]

[170] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 치환을 갖는다. 이러한 치환은 IgV 도메인 또는 IgC 도메인 내에서 일어날 수 있다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에서 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편 내에서 최대 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개의 아미노산 치환을 갖는다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은, SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 IgSF 단백질에 함유된 IgSF 도메인과 같은, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 약 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는다.

[0181]

[171] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 B7 IgSF 패밀리의 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에서 아미노산 치환을 하나 이상 함유한다. 일부 구체예에서, B7 IgSF 패밀리의 멤버는 CD80, CD86 또는 ICOS 리간드 (ICOSL)이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1, 2 또는 5 중 어느 하나에 제시된 IgSF 단백질에 함유된 IgSF 도메인과 같은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 약 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는다. CD80의 예시적인 친화성 변형된 IgSF 도메인을 다음 표 2에 나타내었다. ICOSL의 예시적인 친화성 변형된 IgSF 도메인을 다음 표 3에 나타내었다. CD86의 예시적인 친화성 변형된 IgSF 도메인을 다음 표 4에 나타내었다.

표 2: 예시적인 변이체 CD80 폴리펩타이드들

돌연변이(들)	ECD SEQ ID NO	IgV SEQ ID NO
야생형	28	152
L70Q/A91G	55	153
L70Q/A91G/T130A	56	
L70Q/A91G/I118A/T120S/T130A	57	
V4M/L70Q/A91G/T120S/T130A	58	154
L70Q/A91G/T120S/T130A	59	
V20L/L70Q/A91S/T120S/T130A	60	155
S44P/L70Q/A91G/T130A	61	156
L70Q/A91G/E117G/T120S/T130A	62	
A91G/T120S/T130A	63	157
L70R/A91G/T120S/T130A	64	158
L70Q/E81A/A91G/T120S/I127T/T130A	65	159
L70Q/Y87N/A91G/T130A	66	160
T28S/L70Q/A91G/E95K/T120S/T130A	67	161
N63S/L70Q/A91G/T120S/T130A	68	162
K36E/I67T/L70Q/A91G/T120S/T130A/N152T	69	163
E52G/L70Q/A91G/T120S/T130A	70	164
K37E/F59S/L70Q/A91G/T120S/T130A	71	165
A91G/S103P	72	
K89E/T130A	73	166
A91G	74	
D60V/A91G/T120S/T130A	75	167
K54M/A91G/T120S	76	168
M38T/L70Q/E77G/A91G/T120S/T130A/N152T	77	169
R29H/E52G/L70R/E88G/A91G/T130A	78	170
Y31H/T41G/L70Q/A91G/T120S/T130A	79	171
V68A/I10A	80	172
S66H/D90G/T110A/F116L	81	173
R29H/E52G/T120S/T130A	82	174
A91G/L102S	83	
I67T/L70Q/A91G/T120S	84	175
L70Q/A91G/T110A/T120S/T130A	85	
M38V/T41D/M43I/W50G/D76G/V83A/K89E/T120S/T130A	86	176
V22A/L70Q/S121P	87	177
A12V/S15F/Y31H/T41G/T130A/P137L/N152T	88	178
I67F/L70R/E88G/A91G/T120S/T130A	89	179
E24G/L25P/L70Q/T120S	90	180
A91G/F92L/F108L/T120S	91	181
R29D/Y31L/Q33H/K36G/M38I/T41A/M43R/M47T/E81V/L85R/K89N/A91T/F92P/K93V/R94L/I118T/N149S	92	182
R29D/Y31L/Q33H/K36G/M38I/T41A/M43R/M47T/E81V/L85R/K89	93	

[0182]

N/A91T/F92P/K93V/R94L/N144S/N149S		
R29D/Y31L/Q33H/K36G/M38I/T41A/M42T/M43R/M47T/E81V/L85R/K89N/A91T/F92P/K93V/R94L/L148S/N149S	94	183
E24G/R29D/Y31L/Q33H/K36G/M38I/T41A/M43R/M47T/F59L/E81V/L85R/K89N/A91T/F92P/K93V/R94L/H96R/N149S/C182S	95	184
R29D/Y31L/Q33H/K36G/M38I/T41A/M43R/M47T/E81V/L85R/K89N/A91T/F92P/K93V/R94L/N149S	96	
R29V/M43Q/E81R/L85I/K89R/D90L/A91E/F92N/K93Q/R94G	97	185
T41I/A91G	98	186
K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R/N122S/N177S	99	187
K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R	100	
K36G/K37Q/M38I/F59L/E81V/L85R/K89N/A91T/F92P/K93V/R94L/E99G/T130A/N149S	101	188
E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R	102	189
K36G/K37Q/M38I/L40M	103	190
K36G	104	191
R29H/Y31H/T41G/Y87N/E88G/K89E/D90N/A91G/P109S	105	192
A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T	106	193
R29V/Y31F/K36G/M38L/N43Q/E81R/V83I/L85I/K89R/D90L/A91E/F92N/K93Q/R94G	107	194
V68M/L70P/L72P/K86E	108	195

[0183]

표 3: 예시적인 변이체 ICOSL 폴리펩타이드들		
돌연변이(들)	ECD SEQ ID NO	IgV SEQ ID NO
야생형	32	196
N52S	109	197
N52H	110	198
N52D	111	199
N52Y/N57Y/F138L/L203P	112	200
N52H/N57Y/Q100P	113	201
N52S/Y146C/Y152C	114	
N52H/C198R	115	
N52H/C140D/T225A	116	
N52H/C198R/T225A	117	
N52H/K92R	118	202
N52H/S99G	119	203
N52Y	120	204
N57Y	121	205
N57Y/Q100P	122	206
N52S/S130G/Y152C	123	
N52S/Y152C	124	
N52S/C198R	125	
N52Y/N57Y/Y152C	126	
N52Y/N57Y/I29P/C198R	127	
N52H/L161P/C198R	128	
N52S/T113E	129	
S54A	130	207
N52D/S54P	131	208
N52K/L208P	132	209
N52S/Y152H	133	
N52D/V151A	134	
N52H/I143T	135	
N52S/L80P	136	210
F120S/Y152H/N201S	137	
N52S/R75Q/L203P	138	211
N52S/D158G	139	
N52D/Q133H	140	
N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R	141	212
N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	142	213
N52S/G103E	239	240

표 4: 예시적인 변이체 CD86 폴리펩타이드들		
돌연변이(들)	ECD SEQ ID NO	IgC SEQ ID NO
야생형	29	220
Q35H/H90L/Q102H	148	221
Q35H	149	222
H90L	150	223
Q102H	151	224

[172] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 NkP30 패밀리 멤버의 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 함유한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NO: 27에 제시된 IgSF 단백질에 함유된 IgSF 도메인과 같은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 약 85%, 86%, 86%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 서열 동일성을 갖는다. 표 5는 예시적인 친화성 변형된 NkP30 IgSF 도메인들을 나타낸다.

표 5: 예시적인 변이체 NKp30 폴리펩타이드들		
돌연변이(들)	ECD SEQ ID NO	IgV SEQ ID NO
야생형	54	214
L30V/A60V/S64P/S86G	143	215
L30V	144	216
A60V	145	217
S64P	146	218
S86G	147	219

B. 친화성-변형된 면역조절 단백질의 유형

1. 이중 결합 친화성 변형된 도메인

[173] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 야생형 포유류 비-면역글로불린 (즉, 비-항체) IgSF 패밀리의 적어도 하나의 IgSF 도메인의 서열을 포함할 수 있는데, 여기서 포함된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 친화성 변형된 것이다("I형" 면역조절 단백질). 일부 구체예에서, 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대해 비-경쟁적으로 특이적으로 결합한다.

[174] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대해 비-경쟁적으로 특이적으로 결합하는 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 적어도 한 개 포함한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에 비해, 적어도 하나의 동족 결합 파트너들에 대해 증가된 결합을 나타낸다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인은 적어도 2개의 상이한 동족 결합 파트너들에 대해 증가된 결합을 나타낸다.

[175] 본 발명의 I형 면역조절 단백질의 일부 구체예에서, 포유동물의 IgSF 멤버와 같은 변형되지 않은 또는 야생형 IgSF 멤버는 표 1에 나타난 IgSF 멤버들 (그의 포유동물 오솔로그를 포함한다) 중 하나이거나 또는 상기 멤버들로부터의 IgSF 도메인을 포함한다.

[176] 일부 구체예에서, I형 면역조절 단백질 내에 존재하는 부가적인 IgSF 도메인들은 예컨대 적어도 2개, 3개, 4개 또는 5개의 IgSF 도메인들과 같이, 그리고 일부 구체예에서 정확히 2개, 3개, 4개 또는 5개의 IgSF 도메인들처럼 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 것일 수 있다.

[177] 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 적어도 한 개 포함하되, 상기 친화성 변형된 IgSF 도메인이 1) 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인에 비해 적어도 2개의 동족 결합 파트너들에 비해 변경된, 예컨대 증가 또는 감소된 결합을 갖고; 및 2) 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인을 갖는 것인, 본 발명에서 제공된 I형 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대해 비-경쟁적으로 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, I형 면역조절 단백질의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 2개의 동족 결합 파트너들에 대해 증가된 결합을 갖는다. 일부 구체예에서, 적어도 2개의 동족 결합 파트너들에 대한 I형 면역조절 단백질의 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합은 감소된 것이다. 일부 구체예에서, I형 면역조절 단백질의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 하나의 동족 결합 파트너에 대한 결합은 증가되고 적어도 하나의 다른 상이한 동족 결합 파트너에 대한 결합은 감소된 것이다.

[178] 일부 구체예에서, 2개의 동족 결합 파트너들은 적어도 두 개의 상이한 세포, 예컨대 2개의 상이한 포유동물 세포의 표면에서 발현된다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 하나의 동족 결합 파트너는 림프구에서 발현되고 다른 동족 결합 파트너는 항원-제시 세포에서 발현된다. 일부 구체예에서, 2개의 동족 결합 파트너들은 동일한 면역 세포와 같은 동일한 세포 유형에서 발현된다. 일부 구체예에서, I형 면역조절 단백질은 하나 이상의 면역 세포의 면역학적 활성, 예컨대 T 세포와 같은 림프구의 면역학적 활성을 조절할 수 있다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 증가된다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성은 감소된다.

[179] 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 비-경쟁적으로 결합하는 친화성 변형된 IgSF 도메인을 오직 한 개 포함하거나 또는 실질적으로 상기 도메인만으로 구성된다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인은 친화성 변형된 IgC 도메인이다.

[180] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 I형 면역조절 단백질은 CD28 및 PDL1에 비-경쟁적으로 특이적으로

결합하는 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인은 IgV 도메인이다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 추가의 비-친화성 변형된 IgSF 도메인을 더 포함한다.

[0198] 2. 스택된(Stacked) 또는 멀티-도메인 면역조절 단백질

[181] 본 발명의 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 패밀리 멤버들에서는 발견되지 않는 친화성 변형된 및/또는 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 서열들의 조합("비-야생형 조합") 및/또는 배열("비-야생형 배열(non-wild-type arrangement)" 또는 "비-야생형 순열(non-wild-type permutation)")을 포함한다("II형" 면역조절 단백질). 비-친화성 변형되거나 (예컨대, 야생형) 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 서열들은 포유동물, 예컨대 마우스, 래트, 시노물구스 원숭이, 또는 인간 기원 또는 이들의 조합으로부터 유래할 수 있다. II형 면역조절 단백질의 이러한 구체예에 존재하는 이러한 비-친화성 변형되거나 또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수는 (비-야생형 조합이건 또는 비-야생형 배열이건) 적어도 2, 3, 4, 또는 5개, 일부 구체예에서는 정확히 2, 3, 4, 또는 5개의 IgSF 도메인들이다 (이에 따라 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수를 구할 때 그의 비-특이적 결합 분획 서열 및/또는 실제로 면역학적으로 불활성인 그의 분획 서열은 무시됨).

[182] 일부 구체예에서, 본 발명의 II형 면역조절 단백질은 IgSF 도메인들의 비-야생형 조합을 포함하되 여기서 상기 IgSF 도메인들은 표 1에 수록된 IgSF 패밀리 멤버의 IgSF 도메인일 수 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 멤버에 함유된 IgSF 도메인과 비교시 하나 이상의 아미노산이 치환된 친화성-변형된 IgSF 도메인 각각일 수 있는 제1 및 제2의 IgSF 도메인을 함유할 수 있다.

[183] 일부 구체예에서, IgSF 도메인들은 각각 독립적으로 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리, 부티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리, 주조직적합 복합체 (MHC) 패밀리, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리, 폴리오마바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리에 함유된 친화성 또는 비-친화성 변형된 IgSF 도메인일 수 있다. 일부 구체예에서, IgSF 도메인들은 각각 CD80(B7-1), CD86(B7-2), CD274 (PD-L1, B7-H1), PDCD1LG2(PD-L2, CD273), ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2), CD276(B7-H3), VTCN1(B7-H4), CD28, CTLA4, PDCD1(PD-1), ICOS, BTLA(CD272), CD4, CD8A(CD8-알파), CD8B(CD8-베타), LAG3, HAVCR2(TIM-3), CEACAM1, TIGIT, PVR(CD155), PVRL2(CD112), CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R1(CD200R), 및 NC R3 (Nkp30)로 이루어진 군으로부터 선택된 IgSF 단백질로부터 독립적으로 유래된다.

[184] 일부 구체예에서, IgSF 도메인들은 표 1에 제시된 IgSF 패밀리 멤버 내의 IgSF 도메인과 같은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 내의 IgSF 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 치환을 독립적으로 함유한다. 일부 구체예에서, 친화성-변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 갖는다. 일부 구체예에서, 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인은 IgV 도메인 또는 IgC 도메인, 예컨대 IgC1 또는 IgC2 도메인이다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 친화성-변형된 IgV 도메인 또는 IgC 도메인이다.

[185] 본 발명의 II형 면역조절 단백질의 일부 구체예에서, IgSF 도메인들의 갯수는 적어도 2개이며 여기서 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수와 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수는 각각 독립적으로 적어도: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개이다. 따라서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수와 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수는 각각 (친화성 변형된 IgSF 도메인: 비-친화성 변형된 IgSF 도메인), 정확히 또는 적어도: 2:0 (친화성 변형된 것: 야생형), 0:2, 2:1, 1:2, 2:2, 2:3, 3:2, 2:4, 4:2, 1:1, 1:3, 3:1, 1:4, 4:1, 1:5, 또는 5:1일 수 있다.

[186] II형 면역조절 단백질의 일부 구체예에서, 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 2개는 동일한 IgSF 도메인들이다.

[187] 일부 구체예에서, 본 발명의 II형 면역조절 단백질은 단일 IgSF 멤버로부터의 친화성 변형된 및/또는 비-친화성 변형된 IgSF 도메인들을 적어도 2개 포함하되, 비-야생형 배열 (또는 "순열(permutation)")로 포함한다. 비-야생형 배열 또는 순열의 한 가지 설명적인 사례는 그의 IgSF 도메인 서열이 비-친화성 변형된 및/또는 친화

성 변형된 IgSF 도메인들의 공급원 역할을 한 야생형 포유동물의 IgSF 패밀리에 멤버에서 발견되는 것들에 대해 친화성 변형된 및/또는 비-친화성 변형된 IgSF 도메인 서열들의 비-야생형 오더를 포함하는 본 발명의 면역조절 단백질이다. 전술한 구체예의 포유동물 야생형 IgSF 멤버들은 표 1에 수록된 것들이다. 따라서, 일례에서, 만일 야생형 패밀리에 멤버가 세포 표면 단백질의 막통과 도메인에 대해 근위(proximal)인 IgC1 도메인 및 막통과 도메인에 대해 원위(distal)인 IgV 도메인을 포함하면, 본 발명의 면역조절 단백질은 비록 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 형태이긴 하지만, 막통과 도메인에 대해 근위인 IgV와 원위의 IgC1을 포함할 수 있다. 본 발명의 면역조절 단백질에서 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 비-야생형 조합 및 비-야생형 배열 양자 모두의 존재 역시도 본 발명의 범위에 포괄된다.

[0206] [188] II형 면역조절 단백질의 일부 구체예에서, 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 비-동일한 (즉, 상이한) IgSF 도메인들이다. 비-동일한 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 특이적인 결합 조건 하에서, 상이한 동족 결합 파트너들에 특이적으로 결합하고 이들의 조작 원본인 야생형 IgSF 도메인들이 동일한 것이었는지와 상관 없이 "비-동일"하다. 따라서, 예를 들어, 본 발명의 면역조절 단백질에서 적어도 2개의 비-동일 IgSF 도메인들의 비-야생형 조합은, 독특한 하나의 IgSF 패밀리에 멤버로부터 기원하는 적어도 하나의 IgSF 도메인 서열 및, 또 다른 독특한 IgSF 패밀리에 멤버로부터 기원하는 적어도 하나의 제2의 IgSF 도메인 서열을 포함할 수 있으며, 여기서 면역조절 단백질의 상기 IgSF 도메인들은 비-친화성 변형된 형태이거나 및/또는 친화성 변형된 형태이다. 그러나, 또 다른 별법 구체예에서는, 이들 2개의 비-동일 IgSF 도메인들이 동일한 IgSF 도메인 서열로부터 기원하지만 적어도 하나는 친화성 변형된 것임으로 해서 이들은 상이한 동족 결합 파트너들과 특이적으로 결합한다.

[0207] [189] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역조절 단백질 내에 존재하는 비-동일한 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 갯수는 적어도 2, 3, 4, 또는 5개이고 일부 구체예에서는 비-동일한 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들이 정확히 2, 3, 4, 또는 5개이다. 일부 구체예에서, 비-동일한 IgSF 도메인들은 표 1에 나타난 적어도 2개의 IgSF 멤버들로부터의 조합이고 일부 구체예에서는 표 1에 나타난 적어도 3개 또는 4개의 IgSF 멤버들의 조합이다.

[0208] [190] 일부 특수한 구체예에서, 본 발명의 II형 면역조절 단백질은 친화성 변형된 NKp30 IgSF 도메인 및 친화성 변형된 ICOSLG IgSF 도메인, 친화성 변형된 CD80 I gSF 도메인 또는 친화성 변형된 CD86 IgSF 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, II형 면역조절 단백질은 적어도 2개의 B7 패밀리에 멤버들로부터의 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인, 친화성 변형된 ICOSL IgSF 도메인 또는 친화성 변형된 CD86 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들로부터의 친화성 변형된 도메인들을 적어도 2개 포함한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인들은 적어도 또는 정확히 1, 2, 3, 4개의 G4S 도메인들을 경유하여 연결된다.

[0209] [191] 스택된 면역조절 단백질 폴리펩타이드 사슬 내 복수개의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 서로 공유적으로 직접적으로 연결될 필요는 없다. 일부 구체예에서, 하나 이상의 아미노산 잔기들의 개재 스펠은 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 서로 공유적으로 간접 결합시킨다. 상기 결합은 N-말단에서 C-말단 잔기를 경유한 것일 수 있다.

[0210] [192] 일부 구체예에서, 결합은 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 N-말단 또는 C-말단에 위치하지 않는 아미노산 잔기들의 측쇄를 통한 것일 수 있다. 따라서, 결합은 말단 또는 내부 아미노산 잔기들 또는 이들의 조합을 통해 만들어질 수 있다.

[0211] [193] 일부 구체예에서, 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 연결하는 "펩타이드 링커"는 단일 아미노산 잔기 또는 그 보다 많은 아미노산 잔기 길이일 수 있다. 일부 구체예에서, 펩타이드 링커는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 갖지만 그 길이는 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 또는 1개 이하의 아미노산 잔기이다. 일부 구체예에서, 링커는 (단일문자 아미노산 코드): GGGGS ("4GS")이거나 4GS 링커의 멀티머일 수 있다(즉, 4GS 링커들이 2, 3, 4, 또는 5개 반복됨). 또 다른 임의의 구체예에서는 면역조절 단백질이 공유적으로 연결된 Fc에 그리고 4GS 링커들 사이에 알라닌 잔기 시리즈가 끼어든다. 일부 구체예에서, 각 시리즈의 알라닌 잔기의 갯수는: 2, 3, 4, 5, 또는 6개 알라닌이다.

[0212] [194] 일부 구체예에서, the 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 제1 및/또는 제2의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들의 N-말단 및/또는 C-말단에 삽입된 "야생형 펩타이드 링커들"에 의해 연결된다. 일부 구체예에서는, 제1의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제1 트레일링 서열 및/또는 제1 IgSF 도메인의 N-말단에 삽입된 리딩 펩타이드 링커가 존재한다. 일부 구체예에

서는, 제2의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제2 트레일링 서열 및/또는 제2 IgSF 도메인의 N-말단에 삽입된 제2의 리딩 펩타이드 링커가 존재한다. 제1 및 제2의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들이 동일한 모(parental) 단백질로부터 유래하고 동일한 배향으로 연결되는 경우, 제1 및 제2의 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인들 간의 야생형 펩타이드 링커들은 복제되지 않는다. 예를 들어, 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커와 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커가 동일한 경우, II형 면역조절 단백질은 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커 또는 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커를 포함하지 않는다.

[0213] [195] 일부 구체예에서, II형 면역조절 단백질은 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인에 삽입된 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커를 포함하되, 여기서 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커는, 야생형 단백질 내 개재 서열로부터 적어도 5개 (예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상)의 연속 아미노산을 포함하며, 이로부터 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parent) IgSF 도메인 및 바로 선행하는 도메인(예컨대 시그널 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에 유도된다. 일부 구체예에서, 제1 리딩 야생형 펩타이드 링커는 그로부터 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parent) IgSF 도메인과 바로 선행하는 도메인(예컨대 시그널 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에 유래되는 것인 야생형 단백질에서 전체 개재 서열을 포함한다.

[0214] [196] 일부 구체예에서, II형 면역조절 단백질은 또한 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커를 추가로 포함하며, 여기서, 상기 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커는, 야생형 단백질 내 개재 서열로부터 적어도 5개 (예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상)의 연속 아미노산을 포함하며, 이로부터 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 후행하는 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막통과 도메인) 사이에 유도된다. 일부 구체예에서, 제1 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함하며 이로부터 제1 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 후행하는 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막통과 도메인) 사이에 유도된다.

[0215] [197] 일부 구체예에서, II형 면역조절 단백질은 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 N- 말단에 삽입된 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커를 추가로 포함하는데, 여기서 상기 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커는 야생형 단백질 내 개재 서열로부터 적어도 5개 (예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상)의 연속 아미노산을 포함하며, 이로부터 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 선행하는 도메인(예컨대 시그널 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에 유도된다. 일부 구체예에서, 제2 리딩 야생형 펩타이드 링커는 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함하며 이로부터 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 선행하는 도메인(예컨대 시그널 펩타이드 또는 IgSF 도메인) 사이에 유도된다.

[0216] [198] 일부 구체예에서, II형 면역조절 단백질은 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 C-말단에 삽입된 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커를 추가로 포함하며, 여기서, 상기 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커는, 야생형 단백질 내 개재 서열로부터 적어도 5개 (예컨대 적어도 약 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15개 이상)의 연속 아미노산을 포함하며, 이로부터 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인이 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 후행하는 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막통과 도메인) 사이에 유도된다. 일부 구체예에서, 제2 트레일링 야생형 펩타이드 링커는 야생형 단백질 내 전체 개재 서열을 포함하며 이로부터 제2 비-친화성 변형된 및/또는 친화성 변형된 IgSF 도메인은 모(parental) IgSF 도메인 및 바로 후행하는 도메인(예컨대 IgSF 도메인 또는 막통과 도메인) 사이에 유도된다.

[0217] [199] CD80 IgSF 도메인을 함유하는 II형 단백질에 대한 리딩 서열 및 트레일링 서열의 예가 SEQ ID NO:231 및 SEQ ID NO:232에 제시되어 있다. ICOSL IgSF 도메인을 함유하는 II형 단백질에 대한 리딩 서열 및 트레일링 서열의 예가 SEQ ID NO: 233 및 234에 제시되어 있다. CD86 IgSF 도메인을 함유하는 II형 단백질에 대한 리딩 서열 및 트레일링 서열의 예가 SEQ ID NOS: 236-238에 제시되어 있다. Nkp30 IgSF 도메인을 함유하는 II형 단백질에 대한 리딩 서열 및 트레일링 서열의 예가 SEQ ID NO:235에 제시되어 있다.

[0218] C. 친화성-변형된 면역조절 단백질의 포맷

[0219] [200] 일부 구체예에서 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 가용성 형태이다. 통상의 기술자라면 세포 표면 단백질들이 일반적으로 세포내, 막통과 및 세포외 도메인(ECD)을 가지리라는 것과 이러한 단백질의 가용성 형태가 세포외 도메인 또는 그의 면역학적으로 활성인 서브서열을 이용하여 만들어질 수 있음을 이해할 것이다. 그

르므로, 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 면역조절 단백질은 막통과 도메인 또는 막통과 도메인의 일부를 결여한다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 면역조절 단백질은 세포내(세포질) 도메인 또는 세포내 도메인의 일부를 결여한다. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질은 IgV 도메인 및/또는 IgC 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 함유하는 ECD 도메인 또는 그의 단편만을 함유하는 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유한다.

[0220] [201] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역조절 단백질의 가용성 형태는 면역글로불린 Fc에 직접 또는 간접적으로 공유 결합된다. 일반적으로, Fc는 면역조절 단백질의 아미노 말단에 공유적으로 결합된다. 면역글로불린 Fc는 일부 구체예에서 IgG1 또는 IgG2와 같은 포유동물의 IgG 클래스 면역글로불린이다. 특별한 구체예에서, Fc는 인간 IgG1 또는 IgG2 Fc이다. 통상의 기술자라면 Fc의 약동학적 특성에 실질적인 변화를 일으키지 않으면서 사소한 변화, 예컨대 1, 2, 3, 또는 4, 아미노산 치환, 결실, 부가 또는 이들의 조합을 일으킬 수 있음을 이해할 것이다. 이러한 변화는 예컨대 항체-의존성 세포-매개된 세포독성을 증강, 억제 또는 제거하거나 또는 생산성을 제고하도록 만들 수 있다. 본 명세서에서 "Fc"라는 용어는 이러한 분자들을 포용하도록 의도된다.

[0221] [202] 일부 구체예에서, Fc는 쥐 또는 인간의 Fc이다. 일부 구체예에서, Fc는 인간 IgG1과 같은 IgG1로부터 유래된다. 일부 구체예에서, Fc는 SEQ ID NO: 226에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 226과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, Fc는 SEQ ID NO: 227에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO: 227과 적어도 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 그 이상의 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.

[0222] [203] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 IgSF-Fc 변이 융합체의 Fc 영역 내로 하나 이상의 아미노산 변형을 도입함으로써, Fc 영역 변이체를 만들 수 있다. 일부 구체예에서, Fc 영역 변이체는 감소된 이펙터 기능을 갖는다. 이펙터 기능을 변경시킬 수 있는 Fc 서열의 변화 또는 돌연변이 사례는 매우 많다. 예를 들어, WO 00/42072, WO2006019447 및 Shields *et al.* *J Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)에는 FcRs에 대하여 향상 또는 감소된 결합능을 갖는 예시적인 Fc 변이체들이 설명되어 있다. 이러한 공개문헌의 내용은 본 발명에 특별히 참조 통합된다.

[0223] [204] 일부 구체예에서, 이펙터 기능의 전부는 아니지만 일부를 지니는 Fc 영역이 제공되는데, 이에 의해, 생체 내에서 Fc 융합체의 반감기가 중요하면서도 어떤 이펙터 기능(예컨대 CDC 및 ADCC)은 불필요하거나 유해한 적용 분야에서 바람직한 후보가 될 수 있다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인하기 위해 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석을 수행할 수 있다. 예를 들어, Fc-ICOSL 변이 융합체가 Fc γ R 결합능을 결여하지만 (그에 따라 ADCC 활성을 결여), FcRn 결합능력은 유지하도록 하기 위해, Fc 수용체 (FcR) 결합 분석을 수행할 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 주요 세포, NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈세포 상의 FcR 발현에 관하여는 문헌 [Ravetch 및 Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492 (1991)]의 464 페이지의 표 3에 요약되어 있다. 목적하는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 분석법의 비제한적인 예는 미국특허 제5,500,362호에 설명되어 있다 (예컨대 Hellstrom, I. *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986) 참조) 및 Hellstrom, I *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985); 미국특허 제 5,821,337 (Bruggemann, M. *et al.*, *J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987) 참조). 다른 한편, 비-방사능 분석법도 이용가능하다 (예컨대, 유세포분석을 위한 ACTI™ 비-방사능 세포독성 분석법 (CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.; 및 CytoTox 96™ 비-방사능 세포독성 분석법 (Promega, Madison, Wis.)). 이러한 분석법에 유용한 이펙터 세포에는 말초혈액 단핵세포(PBMC) 및 내츨러 킬러(NK) 세포가 포함된다. 별법으로, 또는 이에 더해, 목적하는 분자의 ADCC 활성은 예컨대 문헌 [Clynes *et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)]에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 생체내에서 평가될 수도 있다. C1q 결합 분석법은 또한 Fc-ICOSL 변이 융합체가 C1q에 결합할 수 없어 CDC 활성을 결여하는지를 확인하기 위해 수행될 수도 있다. 예컨대: WO 2006/029879 및 WO 2005/100402의 C1q 및 C3c 결합 ELISA 참조. 보체 활성화를 평가하기 위해, CDC 분석법을 실시할 수도 있다 (예컨대: Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996); Cragg, M. S. *et al.*, *Blood* 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M. S. 및 M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004) 참조). FcRn 결합 및 생체내 소거/반감기 탐지 역시도 기술분야의 공지 방법을 이용하여 수행할 수 있다 (예컨대, Petkova, S. B. *et al.*, *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006) 참조).

[0224] [205] 이펙터 기능이 감소된 Fc 융합체들에는 EU 넘버링에 의해 Fc 영역 잔기들 238, 265, 269, 297, 327 및 329 중 하나 이상이 치환된 것들이 포함된다(미국특허 제 6,737,056). 이러한 Fc 돌연변이체에는 265 및 297 잔기가 알라닌으로 치환된 소위 "DANA" Fc 돌연변이체를 비롯하여, EU 넘버링에 의해 아미노산 위치 265, 269,

270, 297 및 327 중 두 개 이상이 치환된 Fc 돌연변이가 포함된다(미국특허 제 7,332,581).

- [0225] [206] FcRs에 대한 결합이 증가 또는 감소된 어떤 Fc 변이체도 설명된 바 있다 (예컨대, 미국특허 제 6,737,056; WO 2004/056312, WO2006019447 및 Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001) 참조.)
- [0226] [207] 일부 구체예에서, 예컨대 미국특허 제 6,194,551, WO 99/51642, 및 Idusogie *et al.*, *J. Immunol.* 164: 4178-4184 (2000)에 설명된 바와 같이, 변경은 Fc 영역에서 만들어져 C1q 결합 및/또는 보체의존 세포독성 (Complement Dependent Cytotoxicity: CDC)의 감소를 야기할 수 있다.
- [0227] [208] 일부 구체예에서, 신생아의 Fc 수용체(FcRn)에 대한 결합을 개선시키거나 및/또는 반감기를 증가시키는 아미노산 치환을 하나 이상 포함하는 변이체 Fc 영역을 포함하는 ICOSL-Fc 변이 융합체가 제공된다. 반감기가 증가되고 FcRn에 대한 결합력이 향상된 항체들이 US2005/0014934A1 (Hinton *et al.*)에 설명되어 있다. 이들 항체들은 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 향상시키는 치환을 하나 이상 포함하는 Fc 영역을 포함한다. 이러한 Fc 변이체에는 EU 넘버링에 의해 Fc 영역 잔기들: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434 중 하나 이상이 치환된 것들, 예컨대 Fc 영역 잔기 434가 치환된 것이 포함된다 (미국특허 제 7,371,826).
- [0228] [209] 그 밖의 Fc 영역 변이체와 관련하여서는 Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988); 미국특허 제 5,648,260; 미국특허 제 5,624,821; 및 WO 94/29351도 참고할 것.
- [0229] [210] 일부 구체예에서, Fc는 SEQ ID NO:226의 넘버링에 의해 N82G인 적어도 하나의 아미노산 치환(EU 넘버링에 의해 N297G에 대응함)을 함유하는 IgG1 변이체이다. 일부 구체예에서, 변이체 Fc 영역은 C5S 아미노산 변형을 더 포함한다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 변이체 Fc 영역은 다음의 아미노산 변형을 포함한다: C5S 및 N82G.
- [0230] [211] 일부 구체예에서, 본 발명의 면역조절 단백질에 대한 Fc의 간접적인 공유 결합은 예컨대 단일 아미노산 또는 펩타이드(길이가 2개 이상인 아미노산 잔기) 링커를 경유하여 만들어질 수 있다. 또한, 이러한 Fc-융합 분자들의 단일 폴리펩타이드 사슬은 인터-폴리펩타이드 사슬 디설파이드 결합을 경유한 것을 포함하는 다양한 수단을 통해 다imer화(이량화)될 수 있다. 본 발명의 면역조절 단백질의 다imer화 형태는 2개의 동일한 또는 실제로 동일한 본 발명의 폴리펩타이드 종들을 포함하거나 (호모다imer) 또는 본 발명의 상이한 폴리펩타이드 종들 (헤테로다imer)을 포함할 수 있다. 발현 또는 단백질분해시 근소한 차이 또는 번역후 변형에 기인하는 차이로 인해 아미노-말단 및 카르복시-말단 잔기에서의 근소한 차이로 인해, 동일한 종의 폴리펩타이드 사슬간에도 미세한 이질성(microheterogeneities)이 존재할 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그럼에도 불구하고, 이러한 실질적으로 동일한 사슬들은 호모다imer인 것으로 간주된다. 유도된 면역조절 단백질들도 본 발명의 범주에 속하며 종종, 예컨대 변경된 이화학적 또는 약동학적 특성을 제공하도록 만들어진다.
- [0231] [212] 더더욱 특수한 구체예에서, 선행하는 특정 구체예들은 인간 IgG1 또는 IgG2 도메인과 같은 Fc에 공유결합된다. 또 다른 특별한 구체예에서, Fc는 종종 Fc 및 면역조절 단백질에 직접 연결된 적어도 또는 정확히 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 연속 알라닌 잔기와 함께, 하나 이상의 G4S 도메인들을 경유하여 면역조절 단백질에 결합된다.
- [0232] [213] 또 다른 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합된다. 아미드 컨쥬게이션 또는 디설파이드/티오에테르 컨쥬게이션에 의한 것과 같이, 기술분야에는 리포솜 표면에 단백질을 공유 또는 비공유적으로 결합시키는 다양한 방법이 알려져 있다.
- [0233] **D. 면역조절 단백질의 기능적 활성**
- [0234] [214] 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 친화성 변형된 IgSF 도메인 (전장길이 또는 그의 특이적 결합 단편 또는 스택 구조물 또는 융합체)을 함유하는 면역조절 단백질은 T 세포 활성화를 조절하는 면역조절 활성을 나타낸다. 기능적으로, 그리고 그의 동족 결합 파트너에 대한 특이적 결합이 증가 또는 감소되었는지 관계없이, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 MLR 분석과 같은 적절한 분석 조절 하에서, 림프구에 대한 림프구의 면역학적 활성을 증강 또는 억제하는 작용을 한다. 일부 구체예에서, 본 발명에서 제공된 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하되, 여기서 상기 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 면역학적 활성을 증강시키도록 작용하고 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 면역학적 활성을 억제하는 작용을 하는 것이다.
- [0235] [215] 일부 구체예에서, 제공된 면역조절 단백질들은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 대조군에 비해 일

차 T 세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 조절한다. 몇몇 경우, IFN-감마 발현의 조절은 대조군에 비해 IFN-감마 발현을 증가 또는 감소시킬 수 있다. 특이적인 결합 및 IFN-감마 발현을 탐지하기 위한 분석법은 기술 분야에 잘 알려져 있고, 이의 예로는 배양 상등액 중 인터페론-감마 사이토카인 수준을 측정하는 MLR (림프구 혼합 배양반응) 분석법(Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56), SEB(스타필로코커스 내독소 B) T 세포 자극 분석법(Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56), 및 항-CD3 T 세포 자극 분석법(Li 및 Kurlander, J Transl Med. 2010; 8: 104)을 들 수 있다.

[0236] [216] 일부 구체예에서, 친화성 변형된 도메인을 함유하는 면역조절 단백질은 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인 대조군에 비해 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 (인터페론-감마) 발현을 증가시키거나 또는 또 다른 구체예에서는 감소시킬 수 있다. 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 제공된 폴리펩타이드의 일부 구체예에서, 폴리펩타이드는 야생형 ICOSL 대조군에 비해 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 증가시키거나 또는 또 다른 구체예에서는 감소시킬 수 있다. 복수개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 함유하는 제공된 폴리펩타이드들의 일부 구체예에서, 폴리펩타이드는 야생형 IgSF 도메인 대조군에 비해 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 증가시키거나 또는 또 다른 구체예에서는 감소시킬 수 있다.

[0237] [217] 통상의 기술자라면 IFN-감마 발현의 증가를 탐지하는데 이용된 일차 T-세포 분석법이 IFN-감마 발현의 감소를 분석하는데 이용된 것과 다를 수 있음을 인식할 것이다. 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 감소시키는 면역조절 단백질의 능력을 분석하는데 있어서, 실시예 6에 설명된 바와 같은 혼합 림프구 반응(MLR) 분석법을 이용할 수 있다. 몇몇 경우, 실시예 6에 설명된 바와 같이 MLR에서 IFN-감마 발현을 길항하고 그에 따라 상기 발현을 감소시키는 친화성 변형된 IgSF 도메인의 능력을 탐지하기 위해 면역조절 단백질의 가용성 형태를 이용할 수 있다.

[0238] [218] 별법으로, 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 증가시키는 면역조절 단백질의 능력을 분석하기 위해, 실시예 6에 설명된 바와 같이, 공동-고정화 분석법을 이용할 수 있다. 공동-고정화 분석법에서는, 일부 구체예에서 항-CD3 항체에 의해 제공된 TCR 시그널을 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 공동-고정화된 면역조절 단백질과 연계 사용하여, IgSF 도메인 대조군에 비해 IFN-감마 발현을 증가시키는 능력을 탐지한다. 몇몇 경우, 다가(multivalent) 결합을 제공하는 정도로 멀티머화된 면역조절 단백질의 가용성 형태를 이용하여, 실시예 6에 설명된 것과 마찬가지로 MLR 법으로, IFN-감마 발현을 작용(agonize)시키고 그에 의해 증가시키는 면역조절 단백질의 능력을 탐지할 수 있다.

[0239] [219] Use 통상의 기술자에게는 적절한 대조군의 사용이 잘 알려져 있지만, 전술한 구체예에서, 대조군은 일반적으로 IgSF 도메인이 유래하거나 발달한 종과 동일한 포유동물 종으로부터의 천연 IgSF 이소폼의 야생형과 같은 변형되지 않은 IgSF 도메인을 사용하는 것과 연관되어 있다. 동족 결합 파트너들 중 어느 하나 또는 양쪽 모두에 대한 결합 친화성이 증가 또는 감소되었는지와 무관하게, 일부 구체예에서 특정한 면역조절 단백질은 IFN-감마 발현을 증가시킬 것이고 별법 구체예에서는 야생형 IgSF 도메인 대조군에 비해 일차 T-세포 분석법에서 IFN-감마 발현을 감소시킬 것이다.

[0240] [220] 일부 구체예에서, 예컨대 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 면역조절 단백질은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 대조군에 비해 IFN-감마 발현(즉, 단백질 발현)을 적어도: 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 그 이상 증가시킨다. 또 다른 구체예에서, 예컨대 친화성 변형된 IgSF 도메인을 함유하는 면역조절 단백질은 야생형 또는 변형되지 않은 IgSF 도메인 대조군에 비해 IFN-감마 발현(즉, 단백질 발현)을 적어도: 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 그 이상 증가시킨다. 일부 구체예에서, 면역학적 활성의 향상은 MLR 분석법과 같은 비-세포 대조군 값보다 적어도 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 75%, 100%, 200%, 300%, 400%, 또는 500% 이상 더 크증가될 수 있다. Wang et al., Cancer Immunol Res. 2014 Sep; 2(9):846-56. 일부 구체예에서, 면역학적 활성의 역제는 적어도 10%, 및 up to 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 또는 90%의 감소일 수 있다.

[0241] III. 핵산 및 단백질 생산 방법

[0242] [221] 본 발명은 본 발명의 다양한 면역조절 단백질 (I형 및 II형)을 인코딩하는, 집합적으로 "본 발명의 핵산"이라 칭해지는 분리된 또는 재조합 핵산을 제공한다. 후술하는 모든 것들을 비롯하여 본 발명의 핵산은 본 발명의 폴리펩타이드의 재조합 생산(예컨대, 발현)에 유용하다. 본 발명의 핵산은 RNA 형태 또는 DNA 형태일 수 있고, mRNA, cRNA, 재조합 또는 합성 RNA 및 DNA, 및 cDNA가 이에 포함된다. 본 발명의 핵산은 일반적으로 DNA 분자이고 대체로 이중가닥 DNA 분자이다. 그러나, 본 발명의 여하한 뉴클레오타이드 서열들을 포함하는 단일가닥 DNA, 단일가닥 RNA, 이중가닥 RNA, 및 하이브리드 DNA/RNA 핵산 또는 이들의 조합 역시도 제공된다.

- [0243] [222] 본 발명은 본 발명의 면역조절 단백질을 생산하는데 유용한 발현 벡터 및 숙주 세포에 관한 것이기도 하다. 본 발명의 면역조절 단백질은 재조합 DNA 기술을 이용하여 형질전환된 숙주 세포에서 생산가능하다. 이를 위해, 면역조절 단백질을 인코딩하는 재조합 DNA 분자를 준비한다. 이러한 DNA 분자의 준비 방법은 기술분야에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 적절한 제한 효소를 이용하여 DNA로부터 펩타이드를 코딩하는 서열을 절단해낼 수 있다. 별법으로, 포스포아미다이트 방법과 같은 화학합성 기술을 이용하여 DNA 분자를 합성할 수도 있다. 또한, 이들 방법을 조합할 수도 있다. 몇몇 경우, 재조합 또는 합성 핵산은 폴리머라제 사슬 반응(PCR)을 통해 생성될 수도 있다.
- [0244] [223] 본 발명은 또한 면역조절 단백질의 발현에 적합한 조건 하에 적절한 숙주 세포에서 면역조절 단백질을 발현할 수 있는 발현 벡터 역시도 포함한다. 재조합 발현 벡터는 적절한 발현 조절 서열에 작동적으로 연결된 면역조절 단백질을 코딩하는 DNA 분자를 포함한다. DNA 분자가 벡터 내로 삽입되기 전 또는 후에 이 작동적 연결에 영향을 미치는 방법은 잘 알려져 있다. 발현 대조군 서열은 프로모터, 액티베이터, 인핸서, 오퍼레이터, 리보솜 결합 부위, 개시 시그널, 종결 시그널, 캡 시그널, 폴리아데닐화 시그널 및 전사 또는 번역을 제어하는데 연관된 그 밖의 시그널을 포함한다. DNA 분자를 갖는 결과적인 재조합 발현 벡터를 이용하여 적절한 숙주를 형질전환시킨다. 이 형질전환은 기술 분야에 잘 알려진 방법을 이용하여 수행할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 핵산은 본 발명의 면역 조절 단백질을 인코딩하는 핵산에 작동적으로 연결된 분비 또는 시그널 펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함함으로써 해서, 면역조절 단백질이 배양 배지, 숙주 세포 또는 숙주 세포 주변세포질로부터 회수될 수 있다.
- [0245] [224] 이용가능한 그리고 잘 알려진 많은 숙주 세포들을 본 발명을 실시하는데 사용할 수 있다. 적절한 숙주의 선택은 기술분야에 인식되는 여러 인자들에 의해 좌우된다. 이의 예로는 선택된 발현 벡터와의 공용성, DNA 분자에 의해 인코딩된 펩타이드의 독성, 형질전환율, 펩타이드의 회수 용이성 발현 특성화, 생물-안전성 및 비용을 들 수 있다. 특정 DNA 서열의 발현에 모든 숙주가 동등하게 효과적인 것은 아니라는 인식 하에 이들 인자들의 균형을 맞추어야 한다. 숙주 세포는 효모 세포와 같은 진핵 세포 또는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 또는 HEK293 세포와 같은 포유동물 세포로 다양할 수 있다. 숙주 세포는 또한 대장균과 같은 원핵세포일 수 있다. 형질전환된 숙주는 면역조절 단백질 발현 조건 하에 배양된 다음, 정제된다. 면역조절 단백질이 발현되도록 재조합 숙주 세포를 통상적인 발효 조건 하에 배양할 수 있다. 이러한 발현 조건은 기술 분야에 잘 알려져 있다. 마지막으로, 면역조절 단백질은 암모늄 설페이트 또는 에탄올 침전, 산 추출법, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로스 크로마토그래피, 소수성 상호작용 크로마토그래피 및 친화성 크로마토그래피를 비롯하여 기술 분야에 잘 알려진 여러가지 방법에 의해 재조합 세포 배양체로부터 회수 및 정제된다. 성숙한 단백질의 배치를 완결짓는데 있어서 단백질 리폴딩 단계를 필요에 따라 이용할 수 있다. 마지막으로, 마지막 정제 단계에서 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용할 수 있다. 본 발명의 면역조절 단백질은 합성 방법에 의해서도 만들어질 수 있다. 고체상 합성은 작은 펩타이드를 만드는 가장 비용-효율적인 방법이기 때문에 개별적인 펩타이드의 선호되는 제조기술이다. 예를 들어, 잘 알려진 고상 합성 기술은 특이적인 보호 및 탈보호 반응 조건, 링커 절단 조건, 스캐빈저의 사용 및 고상 펩타이드 합성의 기타 측면 뿐만 아니라, 보호기, 링커 및 고체상 지지체의 사용도 포함한다. 이어서 펩타이드를 본 발명의 면역조절 단백질로 어셈블링할 수 있다.
- [0246] [225] 본 발명의 면역조절 단백질의 친화성 변형된 IgSF 도메인들이 설계 또는 생성되는 수단은 어느 특정한 방법으로 한정되지 않는다. 그러나, 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인들은 야생형 IgSF 유전물질로부터 돌연변이(부위 특이적, 무작위 또는 이들의 조합 방식으로)된 후 여러 실시예에 개시된 방법에 따라 변경된 결합에 대해 스크리닝된다. 핵산을 돌연변이하는 방법은 당업자에게 잘 알려져 있다. 일부 구체예에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 공공연히 이용가능한 데이터베이스에서 입수가 가능한 단백질이나 핵산 서열을 이용하여 드 노보 합성 가능하며 이어서 스크리닝된다. 국립 생화학정보 센터(The National Center for Biotechnology Information)는 이러한 정보를 제공해주며 그 웹사이트는 전술한 UniProtKB 데이터베이스의 경우와 같이 인터넷을 통해 공개적으로 접근가능하다.
- [0247] **IV. 친화성 변형된 IgSf 도메인들의 스크리닝 또는 동정 방법**
- [0248] [226] 본 발명에 따라 동시에 2개 이상의 동족 결합 파트너들에 결합할 수 있거나 또는 비경쟁적인 방식으로 결합할 수 있는 친화성 변형된 면역조절 단백질의 동정 방법이 제공된다. 일부 구체예에서, 이 방법은: a) 적어도 하나의 비-면역글로불린 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하는 변형된 단백질을, 상기 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너와 결합할 수 있는 조건 하에서 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 단계; b) 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 단백질

에 비해, 2개의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대하여 증가된 결합능을 갖는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 단계; 및 c) 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 선택함으로써, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 단계를 포함한다. 일부 구체예에서, 선택된 친화성 변형된 단백질은 2개의 동족 결합 파트너들과 동시에 결합할 수 있다. 2개 이상의 상이한 리간드들에 대한 하나의 단백질의 비-경쟁적 상호반응의 존재 여부를 평가 또는 알아내는 것은 통상의 기술자의 지식 수준 범위 내이다. 이러한 방법의 일례가 실시예 7에 설명되어 있다

[0249] [227] 일부 구체예에서, IgSF 도메인은 비-면역글로불린 IgSF 도메인이다. 일부 구체예에서, 변형된 또는 변이체 단백질은 하나 이상의 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입이 표 1에 제시된 바와 같은, 비-면역글로불린 IgSF 패밀리의 IgSF 도메인에서 이루어진 단백질이다. 일부 구체예에서, 변형된 또는 변이체 IgSF 도메인 또는 변형된 또는 변이체 IgSF 도메인 또는을 함유하는 변형된 단백질은 이러한 아미노산 치환과 같은 아미노산 변경을 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 개 함유한다.

[0250] [228] 일부 구체예에서, 변형된 또는 변이체 단백질의 라이브러리는 기술 분야에 공통적으로 알려진 임의의 방법을 이용하여 비-면역글로불린 IgSF 도메인을 함유하는 것으로 알려진 단백질의 아미노산 잔기를 하나 이상 돌연변이시킴으로써 생성된다. 결합 분자를 생성, 조작 또는 다양화시키기 위해 사용되는 모든 방법을 본 명세서에 설명된 변형된 IgSF 도메인을 생성하는데 이용할 수 있다. 결합 분자를 생성, 조작 또는 다양화시키기 위한 이러한 방법의 예로는 미국특허 No. 5,223,409; 5,571,698, 5,750,373, 5,821,047; 5,837,500; 5,733,743; 5,871,907; 5,969,108; 6,040,136; 6,172,197; 6,291,159; 6,955,877; 6,979,538; 6,831,161; 7,063,943; 7,118,879; 7,208,293; 7,332,571; 7,385,028; 7,696,312; 7,638,299; 7,888,533; 7,642,044; 미국특허출원 No. US20080300163; US20090208454; US20090155843; US20080113412; US20100035812; US20100093608; US20110015345에 설명된 것들을 들 수 있으나 이에 한정되지 않는다; 예컨대, IgSF-contiain은 생분자들의 다양화 또는 조작 방법에서 다른 결합 분자 대신 사용될 수 있다.

[0251] [229] 결합 분자의 라이브러리를 생성하고 그 라이브러리에서 다양성을 만들어내는 방법은 기술분야에 널리 알려져 있고 단백질 변이체의 라이브러리를 생성하는데 이용될 수 있다. 다양성을 만들어내는 접근법에는 기술분야에 공지인 표적화 및 비표적화 접근법이 포함된다. 예를 들어, 다양한 핵산 및 폴리펩타이드 라이브러리를 생성하기 위한 공지 접근법의 비제한적인 예로는 오류-유발(error-prone) PCR, 카세트 돌연변이; 상호 프라이머 연장(extension); 템플레이트-보조 접합(라이게이션) 및 연장; 코돈 카세트 돌연변이; 올리고뉴클레오타이드-지향된 돌연변이; 오버랩 및 2단계 PCR을 비롯하여, 축퇴 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 이용하는 증폭; 및 조합식 멀티플 카세트 돌연변이(CMCM: combinatorial multiple cassette mutagenesis) 및 관련 기술과 같은 조합형 접근법을 들 수 있다. 이러한 기술은 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다.

[0252] [230] 변형된 단백질 분자들의 후보 라이브러리를 생성하기 위해 단백질을 돌연변이시키는 방법의 예로는, 전체 단백질 서열에 걸쳐 무작위 돌연변이를 결과시키는 방법 또는 단백질의 선택된 영역 또는 도메인을 돌연변이시키는 방법을 들 수 있다. 돌연변이는 단백질의 무작위 돌연변이를 야기하는 방법, 또는 보다 체계적으로, 표적화된 위치에서 단일 또는 복수개의 아미노산 변화를 특이적으로 만들어내는 방법을 이용하여 도입될 수 있다. 단백질에 하나 이상의 돌연변이를 도입하는데 있어서 이들 두 가지 무작위 돌연변이 및 체계적인 위치-지향 돌연변이 양자 모두가 이용될 수 있다. 변이체 단백질은 라이브러리 생성을 위한 스펙트럼으로서 사용되는 야생형 또는 변형되지 않은 단백질에 비해 아미노산 치환, 삽입 또는 결실을 하나 이상 산생할 수 있다. 치환 또는 삽입은 임의의 자연발생적인 아미노산 또는 비-자연발생적인 아미노산을 이용하여 수행가능하다.

[0253] [231] 제공된 방법에 따라 비-면역글로불린 IgSF 도메인을 함유하는 변이체 또는 변형된 단백질을 동정 또는 생성하기 위한 방법에서, 단백질의 하나 이상의 영역들, 예컨대 단백질의 IgSF 도메인 또는 도메인들을, 어떤 영역의 무작위 돌연변이를 이용하여 변형시킴으로써 하나 또는 복수개의 변형된 단백질 분자들을 생성할 수 있다. 예를 들어, IgSF 도메인을 함유하는 대응하는 비변형 또는 야생형 단백질에 비해 IgSF 도메인 내에 적어도 하나의 아미노산 대체(즉 치환), 결실 또는 삽입에 의해 각각 차이나는 변형된 복수개의 분자들을 함유하는 변이체들의 라이브러리를 생성할 수 있다. 아미노산 치환(들)은 비변형 또는 야생형 단백질에 비해 자연발생적인 아미노산 또는 비-자연발생적인 아미노산의 치환(들)일 수 있다. 일반적으로, 본 발명세 제공된 라이브러리에는 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 10^2 , 10^3 , 10^4 , 2×10^4 , 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 , 6×10^4 , 7×10^4 , 8×10^4 , 9×10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 또는 그 이상의 상이한 멤버들을 함유하는 라이브러리들이 포함된다. 복수개의 변형된 단백질들을 함유하는 생성된 라이브러리는 변이체 디스플레이가 예컨대 파지 디스플레이, 세포-표면 디스플레이, 비드 디스플레이, 리보솜 디스플레이 또는 기타에 의한 것인 조합 라이브러리

리를 비롯한, 디스플레이 라이브러리로서 생성될 수 있다. 이들 라이브러리를 이용하여, 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 특이적으로 비-경쟁적으로 결합하는 비-면역글로불린 IgSF 도메인들을 함유하는 변형된 또는 변이체 단백질들을 스크리닝할 수 있다.

[0254] [232] 일부 구체예에서, 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비-경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 선택하기에 앞서, 본 발명의 방법은 단계 (b)에서 상이한 변형된 복수개의 IgSF 도메인들을 함유하는 스택된 분자 구조물을 생성하는 것으로 동정된 2개 이상의 변형된 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 조합하는 단계를 포함한다.

[0255] [233] 그러므로, 일부 구체예에서, 본 발명에 따라: a) 적어도 하나의 비-면역글로불린 변형된 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하는 변형된 단백질을 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과, 상기 단백질이 상기 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 결합할 수 있는 조건 하에서 접촉시키는 단계로서, 상기 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메인이 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 단계; b) 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 단백질에 비해 2개의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대한 결합이 증가된 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 단계; c) 2개 이상의 동종된 단백질들 내에 존재하는 2개 이상의 변형된 IgSF 도메인들을 조합시켜 제2 IgSF 도메인에 연결된 제1 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 융합(스택된) 단백질을 생성하는 단계; 및 d) 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비-경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인들을 포함하는 변형된 단백질을 선택함으로써, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 단계를 포함하는, 친화성 변형된 면역조절 단백질의 동정 방법이 제공된다.

[0256] [234] 일부 구체예에서, 적어도 2개의 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포 표면에서 발현되는 세포 표면 분자 중들이다. 일부 구체예에서, 세포 표면 분자 중들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 하나로서 상기 세포 표면 분자 중들 각각은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포 중 적어도 하나에서 발현된다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포 중 적어도 하나는 림프구이며, NK 세포 또는 T 세포일 수 있다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포 중 적어도 하나는 종양 세포이다. 일부 구체예에서, 포유동물 세포 중 적어도 하나는 항원-제시 세포이다.

[0257] [235] 일부 구체예에서, 2 이상의 동족 결합 파트너들은 독립적으로 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30으로부터 선택된 IgSF 멤버의 리간드이다. 일부 구체예에서, 2 이상의 동족 결합 파트너들은 독립적으로 B7 패밀리 멤버의 리간드이다. 일부 구체예에서, 2 이상의 동족 결합 파트너들은 CD28, CTLA-4, ICOS 또는 PD-L1 중 2 이상으로부터 선택된다.

[0258] V. 의약 조성물 및 제형

[0259] [236] 본 발명의 치료제 조성물을 포함하는 의약 조성물은 예컨대 조성물의 pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 멸균성, 안정성, 분해 또는 방출 속도, 흡착성, 또는 침투성을 변형, 유지 또는 보존시키기 위한 조제 물질을 함유할 수 있다. 의약 조성물 내 주요 비히클 또는 담체는 수성 또는 비수성 속성을 가질 수 있다. 예를 들어, 적절한 비히클 또는 담체는 주사용수 또는 생리식염수일 수 있고, 비경구 투여용 조성물에 혼한 다른 물질들에 의해 보충될 수도 있다. 중성 완충된 염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 염수를 비히클의 또 다른 예이다. 그 밖의 예시적인 의약 조성물들은 약 7.0-8.5의 Tris 완충액 또는 약 pH 4.0-5.5의 아세트이트 버퍼를 포함하며, 추가로 소르비톨 또는 적절한 그의 대체물을 더 포함할 수도 있다. 본 발명의 일 구체예에서, 동결건조 케익 또는 수용액 형태로 임의의 제형용 제제와 함께 목적하는 순도를 갖는 선택된 조성물을 혼합함으로써 보관을 위한 결합제 조성물을 제조할 수 있다. 또한, 결합제 제품은 수크로스나 같은 적절한 부형제를 이용하여 동결건조물로서 제형화될 수도 있다.

[0260] [237] 제형 성분들은 투여 부위에 허용가능한 농도로 존재한다. 예를 들어, 완충액은 조성물을 생리적 pH 또는 약간 낮은 pH, 일반적으로 약 5 내지 약 8의 pH를 유지하도록 사용된다. 비경구 투여에 특히 적합한 비히클은 결합제가 멸균, 등장 용액으로서, 적절히 보존되도록 제형화된, 멸균 증류수이다. 또 다른 제제는 제품을 조절 또는 지속적으로 방출시킴으로써 해서 데포(depot) 주사를 통해 전달될 수 있는, 주사가 가능한 마이크로스피어, 생물-침식가능한 입자, 폴리머 화합물(폴리아세트산, 폴리글리콜산), 비드, 또는 리포솜과 같은 물질과 함께 목적하는 분자를 제제화하는 것을 포함할 수 있다.

[0261] [238] 또 다른 측면에서, 비경구 투여에 적합한 의약 제형은 수용액, 종기로는 행크액, 링거액 또는 생리적으로 완충된 염수와 같이 생리적으로 공용가능한 완충액 내에 조성될 수 있다. 수성 주사 현탁액은 소듐 카르복시메

틸 셀룰로스, 소르비톨 또는 텍스트란과 같이, 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 함유할 수도 있다. 부가적인 의약 조성물도 통상의 기술자에게 자명할 것이며, 이의 예로는 지속형 또는 조절-전달형 제형 내에 결합제 분자를 포함하는 제형들을 들 수 있다. 리포솜 담체, 생물-침식가능한 마이크로입자 또는 다공성 비드 및 데포 주사와 같은, 기타 다양한 지속형- 또는 조절형-전달 수단을 조성하기 위한 기술 역시도 통상의 기술자에게 잘 알려져 있다. 생체내 투여에 사용되는 의약 조성물은 일반적으로 멸균되어야 한다. 이것은 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조된 경우, 이 방법을 이용한 멸균은 동결건조 및 재조성 전 또는 후에 수행될 수 있다. 비경구 투여를 위한 조성물은 동결건조된 형태 또는 용액에 보관될 수 있다. 이에 더해, 비경구 조성물은 일반적으로, 예컨대 피하주사용침에 의해 침투가능한 스톱퍼를 구비한 정맥 용액 백 또는 바이알과 같이, 멸균 액세스 포트를 갖는 용기 내로 투입된다.

[0262] [239] 일부 구체예에서, 의약 조성물은 멸균된 것이다. 멸균은 멸균 여과막 또는 주사를 통해 여과에 의해 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조되는 경우, 이 방법을 이용한 멸균은 동결건조 전 또는 후에 수행될 수 있다. 비경구 투여용 조성물은 동결건조 형태 또는 용액으로 보관될 수 있다. 이에 더해, 비경구용 조성물은 일반적으로 예컨대 피하주사용침에 의해 침투가능한 스톱퍼를 구비한 정맥 용액 백 또는 바이알과 같이, 멸균 액세스 포트를 갖는 용기 내로 투입된다.

[0263] [240] 일단 의약 조성물이 조성되면, 용액, 현탁액, 겔, 에멀전, 고체 또는 탈수 또는 동결건조된 분말로서 멸균 바이알 내에 보관될 수 있다. 이러한 제형은 즉석 사용가능한 형태 또는 투여에 앞서 재조성을 요구하는 형태(예컨대 동결건조된)로서 보관될 수도 있다. 치료 목적으로 사용될 의약 조성물의 유효량은 예컨대 치료 용도 및 대상자에 따라 좌우된다. 통상의 기술자라면 따라서, 치료를 위한 적절한 투여량 수준이 부분적으로는 전달될 분자, 결합제 분자가 사용될 목적, 투여 경로, 환자의 크기 (체중, 체표면적 또는 장기의 크기) 및 상태 (연령 및 일반적인 건강 상태)에 따라 달라질 것임을 이해할 것이다. 그러므로, 임상의는 최적의 치료 효과를 얻기 위해 투여량을 적정하고 투여 경로를 변형시킬 수 있다. 본 발명의 치료 조성물은 비경구, 피하 또는 정맥내 또는 그 밖의 다른 경로로 투여될 수 있다. 본 발명의 치료 조성물은 1개월에 1, 2, 3 또는 4회, 1주일에 2회, 2주에 1회 (매 2주마다), 또는 2개월에 1회 (매 2개월마다) 투여될 수 있다. 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개월 또는 그 이상 (예컨대 대상자의 남은 수명 동안을 포함하여, 1, 2, 3, 4년 또는 그 이상) 지속될 수 있다.

[0264] [241] 일반적으로, 의약 조성물의 투여량 및 투여 경로는 표준 의약 실무에 따라 대상자의 크기와 상태에 따라 결정한다. 예를 들어, 치료적으로 유효한 투여량은 세포 배양 분석을 통해 또는 마우스, 래트, 토끼, 개, 돼지 또는 원숭이와 같은 동물 모델에서 초기에 평가될 수 있다. 동물 모델은 또한 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데도 이용될 수 있다. 이러한 정보는 다시 인간에 사용되기에 유용한 투여량과 투여 경로를 결정하는데 이용될 수 있다. 정확한 투여량은 치료를 요하는 대상자와 관련된 여러 인자들을 고려하여 결정된다. 투여량 및 투여의 제반사항은 활성 화합물을 충분한 수준으로 제공하고 목적하는 효과를 유지하도록 조정된다. 고려하여야 할 인자에는 대상자의 질병 상태의 위중도, 전반적인 건강 상태, 연령, 체중 및 성별, 투여 시기 및 투여 빈도, 약물 조합(들), 반응 민감도 및 치료법에 대한 응답성이 포함된다.

[0265] [242] 일부 구체예에서, 의약 조성물은 대상자에게 경구, 경피(transdermally), 흡입, 정맥내, 동맥내, 근육내, 상처부위로의 직접 적용, 외과수술 부위로의 적용, 복강내, 좌약, 피하, 피내, 경피(transcutaneously), 분부, 흉강내, 뇌실내(intraventricularly), 관절내, 안내 또는 척수강내(intraspinaly)를 비롯한 임의의 경로를 통해 대상자에게 투여된다.

[0266] [243] 일부 구체예에서, 의약 조성물의 투여량은 단일 투여량 또는 반복 투여량이다. 일부 구체예에서, 상기 투여량은 대상자에게 1일 1회, 1일 2회, 1일 3회 또는 1일 4회 또는 그 이상 주어진다. 일부 구체예에서는, 1주일에 약 1회 이상(예컨대 약 2 또는 more, 약 3회 이상, 약 4회 이상, 약 5회 이상, 약 6회 이상, 또는 약 7회 이상) 투여된다. 일부 구체예에서, 수일, 수주일, 수개월 또는 수년의 기간에 걸쳐 복수회로 투여된다. 일부 구체예에서, 치료 코스는 약 1회 이상의 투여 (예컨대 약 2회 이상의 투여, 약 3회 이상의 투여, 약 4회 이상의 투여, 약 5회 이상의 투여, 약 7회 이상의 투여, 약 10회 이상의 투여, 약 15회 이상의 투여, 약 25회 이상의 투여, 약 40회 이상의 투여, 약 50회 이상의 투여, 또는 약 100회 이상의 투여)이다.

[0267] [244] 일부 구체예에서, 의약 조성물의 투여량은 대상자 체중 1 kg 당 약 1 μ g 이상의 단백질(예컨대 대상자 체중 1 kg 당 약 2 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 5 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 10 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 25 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 50 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 100 μ g 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 250 μ g 이상의 단백질, 대상자

체중 1 kg 당 약 500 μg 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 1 mg 이상의 단백질, 대상자 체중 1 kg 당 약 2 mg 이상의 단백질, 또는 대상자 체중 1 kg 당 약 5 mg 이상의 단백질)이다.

[0268] [245] 어떠한 화합물의 경우든, 치료적 유효량은 세포 배양 분석 초기에 또는 마우스, 래트, 토끼, 개, 돼지 또는 원숭이와 같은 동물 모델을 통해 평가될 수 있다. 동물 모델은 또한 적절한 농도 범위 및 투여 경로를 결정하는데도 이용될 수 있다. 이러한 정보는 다시 인간에 사용되기에 유용한 투여량과 투여 경로를 결정하는데 이용될 수 있다. 정확한 투여량은 치료를 요하는 대상자와 관련된 여러 인자들을 고려하여 결정된다. 투여량 및 투여의 제반사항은 활성 화합물을 충분한 수준으로 제공하고 목적하는 효과를 유지하도록 조정된다. 고려하여야 할 인자에는 대상자의 질병 상태의 위중도, 전반적인 건강 상태, 연령, 체중 및 성별, 투여 시기 및 투여 빈도, 약물 조합(들), 반응 민감도 및 치료법에 대한 응답성이 포함된다. 장기간 작용하는 의약 조성물은 특정 제형의 반감기 및 소거 속도에 따라 3-4일 마다, 매주, 또는 격주로 투여될 수 있다. 투여 빈도는 사용된 제형 중 분자의 약동학적 파라미터에 따라 달라진다. 일반적으로, 조성물은 투여량에 의해 목적하는 효과가 달성될 때까지 투여된다. 따라서 조성물은 경시적으로 단일 투여 또는 복수회 투여로 (동일 또는 상이한 농도/투여량으로) 투여되거나 또는 지속적인 주입(infusion)으로서 투여될 수 있다. 적절한 투여량의 추가적인 미세 조정은 일상적으로 수행된다. 적절한 투여량인지는 적절한 투여량-반응 데이터를 이용함으로써 확인가능하다.

[0269] [246] 일부 구체예에서, T 세포 활성화 또는 증식, 사이토카인 합성 또는 생산(예컨대, $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$, IL-2의 생산), 다양한 활성화 마커의 유도(예컨대, CD25, IL-2 수용체), 염증, 관절 팽윤 또는 압통, C-반응성 단백질의 혈청 수준, 항-콜라겐 항체 생산, 및/또는 T-, 세포 의존성 항체 반응(들)을 비롯한, 치료 효과에 대한 하나 이상의 바이오마커 또는 생리적 마커를 모니터링할 수 있다.

[0270] [247] 적절한 약학적으로 허용가능한 부형제 또는 담체(예컨대, PBS) 및 본 발명의 치료 조성물의 유효량을 포함하는 의약 조성물은 비경구, 근육내, 복강내, 정맥내, 피내, 경피, 경피 또는 진피내 경로를 통해 포유동물 환자에게 투여될 수 있다. 투여는 리포솜을 통해 용이하게될 수도 있다. 피부와 근육은 본 발명의 치료 조성물을 적절한 기술에 의해 투여하는데 있어 일반적으로 선호되는 표적이다. 따라서, 본 발명의 치료 조성물의 포유동물 대상자(예컨대 인간)의 피부를 통한 또는 피부 내로의 전달은 본 발명의 한 가지 특징이다. 본 발명의 이러한 분자들은 약학적으로 허용가능한 주사가 가능한 용액을 통해 피부 내로 또는 피부를 통해, 예컨대 근육내, 또는 복강내로 투여될 수 있다. 투여는 또한 대상자의 피부 내로 또는 피부를 통한, 또는 포유동물 대상자의 노출된 근육 내로 본 발명의 치료 조성물을 경피 기구를 이용하거나 또는 보다 일반적으로 바이오리스틱 전달을 통해 수행될 수도 있다.

[0271] [248] 본 발명의 치료 조성물의 투여가, 바람직하지 못한 면역 반응을 매개하거나 또는 매개할 수 있는 면역 세포를 제거, 격리 또는 불활성화시키거나; 보호적 면역 반응을 매개하거나 또는 매개할 수 있는 면역 세포를 유도, 생성 또는 튼튼시키거나; 면역 세포의 물리적 또는 기능적 특징을 변화시키거나; 또는 이러한 효과들의 조합에 의해 면역학적 활성을 충분히 조절할 수 있는지를 알아보기 위한 다양한 수단이 알려져 있다. 이러한 면역학적 활성 조절의 측정 사례에는 면역세포 집단의 존부 검사(유세포분석법, 면역조직화학법, 조직학, 전자현미경, 폴리머라제 연쇄반응(PCR)을 이용); 시그널에 반응하여 증식 또는 분열하는 능력 또는 이에 대한 내성을 비롯한 면역 세포의 기능적 능력의 측정 (예컨대 항-CD3 항체, 항-T 세포수용체 항체, 항-CD28 항체, 칼슘 이오노포어, PMA, 펩타이드 또는 단백질 항원이 로딩된 항원제시세포를 이용한 자극 후 T 세포 증식 분석법 및 3H-티미딘 인코포레이션에 기초한 펄스판 분석; B 세포 증식 분석법); 다른 세포를 살해 또는 용해시키는 능력의 측정(예컨대 세포독성 T 세포 분석법); 사이토카인, 케모카인, 세포 표면 분자, 항체 및 세포의 기타 생성물의 측정(예컨대, 유세포 분석법, 효소-결합 면역흡착 분석법, 웨스턴 블롯 분석법, 단백질 마이크로어레이 분석법, 면역침전 분석법); 면역 세포 내 시그널링 경로 또는 면역 세포의 활성화의 생화학적 마커의 측정(예컨대, 티로신, 세린 또는 트레오닌 인산화의 면역침전 분석법 및 웨스턴 블롯, 폴리펩타이드 절단, 및 단백질 복합체의 형성 또는 해리; 단백질 어레이 분석법; DNA 전사, DNA 어레이 또는 분해성(subtractive) 혼성화); 아포토시스, 괴사, 또는 기타 메커니즘에 의한 세포 사멸의 측정(예컨대, 어넥신 V 염색, TUNEL 분석법, DNA 래더링을 측정하기 위한 겔 전기영동법, 조직학; 형광발생 카스파제 분석법, 카스파제 기질의 웨스턴 블롯 분석법); 면역 세포에 의해 생산된 유전자, 단백질 및 기타 분자의 측정(예컨대 노던 블롯 분석법, 폴리머라제 연쇄반응, DNA 마이크로어레이, 단백질 마이크로어레이, 2-차원 겔 전기영동, 웨스턴 블롯 분석법, 효소결합 면역흡착분석법, 유세포 분석법); 및 자가면역, 신경퇴행성 및 자가 단백질 또는 자가 폴리펩타이드와 연관된 기타 질환의 개선과 같은 임상적 증상 또는 결과의 측정(임상 점수, 부가적 치료의 사용에 대한 필요성, 기능 상태, 조영 연구), 예컨대 다발경화증의 경우 재발률 또는 질병 위중도의 측정(통상의 기술자에게 알려진 임상 점수를 이용), I형 당뇨병의 경우 혈당 측정 또는 류마티스성 관절염의 경우 관절 염증을 측정하는 것을 들 수 있다.

- [0272] [249] 또한 본 발명에서 설명된 의약 조성물이 적절히 포장된 제조 물품도 제공된다. 본 발명에 설명된 조성물 (예컨대 안과용 조성물)에 적합한 포장의 예로는 바이알(예컨대 밀봉 바이알), 베셀, 앰플, 보틀, 단지, 유연성 포장(예컨대 밀봉 마일러 또는 비닐백) 등을 들 수 있다. 이러한 제조 물품은 추가로 멸균 및/또는 밀봉될 수 있다.
- [0273] [250] 또한 본 발명에 설명된 의약 조성물 (또는 제조 물품)을 포함하는 키트 역시도 제공되며, 이 키트에는 본 발명에 설명된 용도와 같은, 조성물의 사용 방법에 관한 지시사항(들)이 추가로 포함될 수 있다. 본 발명에 설명된 키트는 또한 기타 완충액, 희석액, 필터, 바늘, 시린지 및 본 발명에 설명된 임의 방법을 수행하기 위한 지침이 적혀 있는 포장 삽입물을 비롯하여, 상업적 및 사용자 관점에서 요구되는 기타 물질을 더 포함할 수도 있다.
- [0274] **VI. 치료적 적용**
- [0275] [251] 본 발명의 면역조절 단백질은 비제한적인 예로서 예컨대 면역계 및 면역계 반응의 조절 또는 제어가 이루어진 포유동물의 다양한 면역계 질환 또는 병태를 치료하기 위한, 예컨대 예방 또는 치료 방법(집합적으로 "본 발명의 치료 조성물"이라 칭함)을 비롯한 다양한 적용예에서 유용성을 갖는 것으로 믿어진다. 예를 들어, 면역 반응의 억제는 공여자로부터의 조직, 세포 또는 장기 이식의 수혜자에 의한 거부를 억제하기 위한 예방 및/또는 치료 방법에서 유용할 수 있다. 치료적 관점에서, 포유동물 대상자는 일반적으로 면역계 질환 또는 병태를 갖는 대상자이고 투여는 질병 또는 병태의 추가 진행을 예방하기 위해 수행된다. 예를 들어, 본 발명의 치료 조성물을 면역계 질환(예컨대 자가면역 질환)을 앓는 대상자에게 투여하면 이러한 면역계의 공격 또는 그와 연관된 생물학적 반응의 억제 또는 저해가 일어날 수 있다. 건강한 신체 조직에 대한 이 면역계 공격을 억제함으로써, 건강한 조직에 미치는 이러한 공격으로부터 야기되거나 관련된, 결과적인 생리학적 증상(예컨대 통증, 관절염, 관절 부종 또는 압통)을 감소 또는 경감시킬 수 있고, 면역계 공격에 기인 또는 연관된 생물학적 및 신체적 손상을 감소, 둔화 또는 중단시킬 수 있다. 예방적 관점에서, 대상자는 면역계 질환, 장애 또는 병태에 걸려있거나, 걸리기 쉽거나 또는 제공하는 대상자일 수 있고, 투여는 일반적으로 질병, 장애 또는 병태의 진행을 예방하고, 이와 연관된 증상, 징후 또는 생물학적 응답을 억제 또는 완화시키며, 잠재적으로 그에 기인하는 신체 손상을 예방 및/또는 대상자의 신체 기능을 유지 또는 개선시키기 위해 수행된다.
- [0276] [252] 환자의 면역계 질환 또는 장애는 비제한적인 예로서 예컨대 애디슨병, 알레르기, 탈모증, 알츠하이머병, 항중성구세포질항체(ANCA)-관련 혈관염, 강직 척추염, 항인지질 증후군(후즈 증후군), 관절염, 천식, 아테롬성 동맥경화증, 죽상경화증, 자가면역 질환(예컨대, 루푸스, RA, MS, 그레이브병, 등) 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프구증식 증후군, 자가면역 심근염, 자가면역 난소염, 자가면역 고환염, 무정자증, 베체트병, 버거병, 물질유사 천포창, 심근병증, 심혈관질환, 복강 스프루/만성소화장애증(Coeliac disease), 만성피로 면역장애 증후군(Chronic Fatigue Immune Dysfunction Syndrome: CFIDS), 만성 특발성 다발신경염, 만성 염증성 탈수초증, 폴리라디칼 신경병증(Polyradicalneuropathy: CIPD), 만성재발성 다발신경병(길랭-바레 증후군), 처그-슈트라우스 증후군(CSS), 흉터유사천포창, 저온응집병(CAD), COPD, CREST 증후군, 크론씨병, 피부염, 헤르페티포무스(Herpetiformis), 피부근육염, 당뇨병, 원반모양 루푸스, 습진, 후천성 표피수포증, 본태성 혼합저온글로불린혈증, 에반 증후군, 안구돌출증, 섬유근육통, 굿패스처 증후군, 이식-관련 질환 또는 장애, 그레이브병, GVHD, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐섬유증, 특발성 혈소판자반병(Idiopathic Thrombocytopenia Purpura: ITP), IgA 신장해, 면역증식성 질환 또는 장애(예컨대, 건선), 염증성 장질환(IBD), 인슐린 의존성 당뇨병(IDDM), 간질성 폐질환, 소아 당뇨병, 연소성 관절염, 연소성 특발성관절염(JIA), 가와사키병, 램버트-이튼 근무력 증후군, 편평태선, 루푸스, 홍반성 신염, 림프구용해성 리포피지티스(Lymphocytic Lypophisitis), 메니에르병, 밀러 피쉬 증후군/급성 파종성 뇌척수신경뿌리병, 혼합형 연결조직 질환, 다발경화증(MS), 근육 류머티즘, 근육 류머티즘성 뇌척수염(ME), 중증근무력증, 눈의 염증, 낙엽성 천포창, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 결절성 다발성동맥염, 다발연골염, 다선성 증후군 (휘태커 증후군), 류마티스성 다발근통, 다발근육염, 원발성 무감마글로불린혈증, 원발성 담즙 간경변/자가면역 콜라겐오파씨, 건선, 건선성 관절염, 레이노드 현상, 라이터 증후군/반응성 관절염, 재협착, 류마티스 열, 류마티스 질환, 류마티스성 관절염, 사코이드증, 슈미트 증후군, 공피증, 쇄그렌 증후군, 고형-장기이식 거부증(신장, 심장, 간, 폐 등), 스티프-만 증후군, 전신홍반루푸스 (SLE), 전신 공피증, 타카야스 관절염, 관자동맥염/거대세포 동맥염, 갑상선염, 1형 당뇨병, 2형 당뇨병, 궤양성 결장염, 포도막염, 맥관염, 백반증, 베게너 육아종증을 들 수 있고, 수혜자에 의한 공여자 조직, 세포, 이식물 또는 장기 이식의 거부와 관련된 면역 반응의 예방 또는 억제를 들 수 있다. 이식-관련 질환 또는 장애에는 예컨대 골수 이식과 관련된 것과 같은이식편 대 숙주 질환(GVHD), 및 장기, 조직 또는 예컨대 피부, 근육, 뉴런, 아일렛, 장기, 간의 실질세포 등을 비롯한 세포 이식편 이식(예컨대 조직 또는

세포 알로그래프트 또는 제노그래프트)에 의해 야기되거나 이것과 연관된 면역 질환이 포함된다. 수혜 대상자에서 공여자의 조직, 세포, 이식편 또는 고형 장기 이식과 관련하여, 본 명세서에 개시된 본 발명의 치료 조성물은 수혜자에서의 급성 이식 거부를 예방하고 및/또는 수혜자에서 이러한 이식의 거부를 예방하기 위한 장기간 유지 요법(예컨대, 당뇨병으로 고통받는 수혜 대상자에서 공여자로부터의 인슐린-생산 섬세포 이식의 거부 억제에 효과적일 것으로 믿어진다.

[0277] [253] 본 발명의 치료 조성물은 또한 단일요법으로서(즉, 단일 제제로서), 적어도 1종의 화학요법제와 조합하여(즉, 조합 요법으로서), 암 백신과 조합하여, 면역 체크포인트 억제제와 조합하여 및/또는 방사선 요법과 조합하여, 포유동물 즉 인간의 암 세포의 성장을 억제하는데 이용할 수도 있다. 본 발명의 몇몇 측면에서, 면역 체크포인트 억제제는 니보루맵, 트레멜리무맵, 펌브롤리주맵, 이필리무맵 등이다. 본 발명의료 조성물의 유효량은 본 발명의 면역조절 단백질에 의한 면역학적 활성의 조절에 민감한 암의 진행을 억제, 중단 또는 역전시키기 위해 투여된다. 인간의 암 세포는 생체내 또는 생체외에서 처리될 수 있다. 인간 암 환자의 생체외 치료에 있어서, 암 세포를 함유하는 조직 또는 체액을 체외에서 처리한 다음 상기 조직 또는 체액을 환자에게 재도입한다. 일부 구체예에서, 암은 인간 환자에게 치료 조성물을 투여함으로써 인간 환자의 생체 내에서 치료된다. 따라서, 본 발명은 종양 진행을 억제, 중단 또는 역전시키거나, 또는 대조군으로 치료한 경우에 비해 무진행 생존(즉, 치료 중 또는 치료 후 환자가 암의 악화 없이 암과 함께 생존하는 기간), 또는 전체적인 생존(또한 "생존률(survival rate"이라고도 칭함; 즉, 연구대상 그룹 또는 치료 그룹 중 암에 걸린 것으로 진단되었거나 암 치료를 받은 후 소정 기간 동안 살아 있는 대상자의 백분율)의 통계적으로 유의한 증가를 일으키는 생체외 및 생체내 방법을 제공한다. 본 발명의 방법에 의해 치료될 수 있는 암의 비제한적인 예로는 흑색종, 방광암, 혈액학적 악성종양(백혈병, 림프종, 골수종), 간암, 뇌암, 신장암, 유방암, 췌장암(선암종), 직장결장암, 폐암(소세포 폐암 및 비소세포 폐암), 비장암, 흉선암 또는 혈액 세포의 암(즉, 백혈병), 전립선암, 고환암, 난소암, 자궁암, 위암종 또는 유잉 육종을 들 수 있다.

[0278] VII. 예시적 구체예

[0279] [254] 본 발명에 따라 다음 구체예들이 제공된다:

[0280] [255] 구체예 1. 일부 구체예에서, 야생형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는 적어도 하나의 비-면역글로불린 친화성 변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 여기서: 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에 비해 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대한 결합이 증가된 것이고; 및 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대해 비-경쟁적으로 특이적으로 결합하는 것이다.

[0281] [256] 구체예 2. 구체예 1의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포의 표면에서 발현된 세포 표면 분자종들이다.

[0282] [257] 구체예 3. 구체예 2의 일부 추가 구체예들에서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다.

[0283] [258] 구체예 4. 구체예 2 또는 구체예 3의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 하나이고 각각의 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현된다.

[0284] [259] 구체예 5. 구체예 2-4 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구이다.

[0285] [260] 구체예 6. 구체예 5의 일부 추가 구체예들에서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포이다.

[0286] [261] 구체예 7. 구체예 5-6 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절한다.

[0287] [262] 구체예 8. 구체예 7의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 증가시킬 수 있다.

[0288] [263] 구체예 9. 구체예 7의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 감소시킬 수 있다.

[0289] [264] 구체예 10. 구체예 2-9 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양

세포이다.

- [0290] [265] 구체에 11. 구체에 2-10 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 인간 세포이다.
- [0291] [266] 구체에 12. 구체에 4-11 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포들과 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0292] [267] 구체에 13. 구체에 1-12 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리, 부티로필린 패밀리, B7 패밀리, CD28 패밀리, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리, 주조직적합 복합체 (MHC) 패밀리, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리, 폴리오바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리 멤버로부터 유래한다.
- [0293] [268] 구체에 14. 구체에 1-13 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래한다.
- [0294] [269] 구체에 15. 구체에 1-14 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 인간 IgSF 멤버이다.
- [0295] [270] 구체에 16. 구체에 1-15 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인, IgC1 도메인, IgC2 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편이다.
- [0296] [271] 구체에 17. 구체에 1-16 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성-변형된 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인, 친화성 변형된 IgC1 도메인 또는 친화성 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편이다.
- [0297] [272] 구체에 18. 구체에 1-17 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함한다.
- [0298] [273] 구체에 19. 구체에 18의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 동일한 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 상이한 아미노산 치환을 포함한다.
- [0299] [274] 구체에 20. 구체에 19의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 상이한 아미노산 치환을 포함한다.
- [0300] [275] 구체에 21. 구체에 20의 일부 추가 구체예들에서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리 멤버들로부터 유래한다.
- [0301] [276] 구체에 22. 구체에 1-17 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인을 오직 한 개 포함한다.
- [0302] [277] 구체에 23. 구체에 1-22 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성-변형된 IgSF는 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0303] [278] 구체에 24. 구체에 23의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 제2 친화성-변형된 IgSF를 추가로 포함하되, 상기 제2 친화성-변형된 IgSF 도메인은 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0304] [279] 구체에 25. 구체에 1-24 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 멤버이다.
- [0305] [280] 구체에 26. 구체에 1-25 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80, CD86 또는 ICOSLG의 도메인이다.
- [0306] [281] 구체에 27. 구체에 1-26 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 CD80의 도메인이

다.

- [0307] [282] 구체에 28. 일부 구체에에서, 야생형 CD80 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환(들)을 포함하는 적어도 하나의 친화성 변형된 CD80 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 여기서 상기 적어도 하나의 친화성 변형된 CD80 IgSF 도메인은 야생형 CD80 IgSF 도메인에 비해 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들에 대하여 증가된 결합을 갖는다.
- [0308] [283] 구체에 29. 구체에 27 또는 구체에 28의 일부 추가 구체예들에서, 동족 결합 파트너들은 CD28 및 PD-L1이다.
- [0309] [284] 구체에 30. 구체에 27-29 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 야생형 IgSF 도메인은 IgV 도메인이고 및/또는 친화성 변형된 CD80 도메인은 친화성 변형된 IgV 도메인이다.
- [0310] [285] 구체에 31. 구체에 27-30 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성-변형된 도메인은 SEQ ID NO:1에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 CD80 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0311] [286] 구체에 32. 구체에 1-31 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 적어도 1개 및 20개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0312] [287] 구체에 33. 구체에 1-32 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 1개 이상 10개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0313] [288] 구체에 34. 구체에 1-33 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 하나의 친화성 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인 내에 1개 이상 5개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0314] [289] 구체에 35. 구체에 1-34 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 동족 결합 파트너들 각각에 대해 그의 야생형 IgSF 도메인이 갖는 결합 친화성의 적어도 120%를 갖는다.
- [0315] [290] 구체에 36. 구체에 1-35 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 비-친화성 변형된 IgSF 도메인을 더 포함한다.
- [0316] [291] 구체에 37. 구체에 1-36 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 가용성이다.
- [0317] [292] 구체에 38. 구체에 1-37 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 막통과 도메인 또는 세포질 도메인을 결여한다.
- [0318] [293] 구체에 39. 구체에 1-38 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 친화성 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 세포외 도메인(extracellular domain: ECD) 또는 그의 특이적인 결합 단편만을 포함한다.
- [0319] [294] 구체에 40. 구체에 1-39 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 펩티다화된 것이다.
- [0320] [295] 구체에 41. 구체에 1-40 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 멀티머화 도메인에 연결된다.
- [0321] [296] 구체에 42. 구체에 1-41 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 Fc 도메인 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된다.
- [0322] [297] 구체에 43. 구체에 42의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체이다.
- [0323] [298] 구체에 44. 구체에 39-41 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0324] [299] 구체에 45. 구체에 42-44 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 대해 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0325] [300] 구체에 46. 구체에 38-41 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 링커를 통해 간접

적으로 연결된다.

- [0326] [301] 구체에 47. 구체에 41-46 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 다이머이다.
- [0327] [302] 구체에 48. 구체에 1-47 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합되어 있다.
- [0328] [303] 구체에 49. 일부 구체예에서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 면역글로불린 수퍼패밀리 (IgSF) 도메인들을 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 여기서: 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 친화성 변형되어 그의 동족 결합 파트너에 대해 변경된 결합을 나타내고; 적어도 두 개의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인들 각각은 독립적으로 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 특이적으로 결합한다.
- [0329] [304] 구체에 50. 구체에 49의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 IgSF 도메인들 각각은 친화성-변형된 IgSF 도메인들이고, 여기서 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1 야생형-유형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0330] [305] 구체에 51. 구체에 50의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제1 야생형 IgSF 도메인에 비해 그의 동족 결합 파트너(들) 중 적어도 하나에 대해 변경된 결합을 나타내고; 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에 비해 그의 동족 결합 파트너(들) 중 적어도 하나에 대해 변경된 결합을 나타낸다.
- [0331] [306] 구체에 52. 구체에 49-51중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 상이한 동족 결합 파트너들은 포유동물 세포의 표면에서 발현되는 세포 표면 분자종들이다.
- [0332] [307] 구체에 53. 구체에 52의 일부 추가 구체예들에서, 상이한 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다.
- [0333] [308] 구체에 54. 구체에 52 또는 구체에 53의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 면역학적 시냅스 (IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 하나이고 상이한 세포 표면 분자종들은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현된다.
- [0334] [309] 구체에 55. 구체에 52-54 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 림프구이다.
- [0335] [310] 구체에 56. 구체에 55의 일부 추가 구체예들에서, 림프구는 NK 세포 또는 T 세포이다.
- [0336] [311] 구체에 57. 구체에 56 또는 구체에 56의 일부 추가 구체예들에서, 세포에 대한 면역조절 단백질의 결합은 림프구의 면역학적 활성을 조절한다.
- [0337] [312] 구체에 58. 구체에 57의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 증가시킬 수 있다.
- [0338] [313] 구체에 59. 구체에 57의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 야생형 단백질에 비해 면역학적 활성을 감소시킬 수 있다.
- [0339] [314] 구체에 60. 구체에 52-59 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포들 중 적어도 하나는 종양 세포이다.
- [0340] [315] 구체에 61. 구체에 52-60 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 인간 세포들이다.
- [0341] [316] 구체에 62. 구체에 54-61 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 IS를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0342] [317] 구체에 63. 구체에 49-62 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 야생형 IgSF 도메인들 내에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0343] [318] 구체에 64. 구체에 63의 일부 추가 구체예들에서, 상이한 야생형 IgSF 도메인들은 상이한 IgSF 패밀리 멤버들로부터 유래한다.
- [0344] [319] 구체에 65. 구체에 49-64 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2의 변형된 IgSF 도메인들은 비-야생형 조합이다.

- [0345] [320] 구체에 66. 구체에 49-65 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 시그널-조절 단백질 (SIRP) 패밀리를, 유사 골수세포 상에서 발현되는 격발 수용체 (TREML) 패밀리를, 암배아 항원-관련 부착 분자 (CEACAM) 패밀리를, 시알산 결합 Ig-유사 렉틴 (SIGLEC) 패밀리를, 부티로필린 패밀리를, B7 패밀리를, CD28 패밀리를, V-세트 및 면역글로불린 도메인 함유 (VSIG) 패밀리를, V-세트 막통과 도메인 (VSTM) 패밀리를, 구조적 적합 복합체 (MHC) 패밀리를, 시그널링 림프구 활성화 분자 (SLAM) 패밀리를, 백혈구 면역글로불린-유사 수용체 (LIR), 넥틴 (Nec) 패밀리를, 넥틴-유사 (NECL) 패밀리를, 폴리오바이러스 수용체 관련 (PVR) 패밀리를, 천연 세포독성 격발 수용체 (NCR) 패밀리를, T 세포면역글로불린 및 뮤신 (TIM) 패밀리를 또는 킬러-세포 면역글로불린-유사 수용체들 (KIR) 패밀리로 부터 선택된 패밀리의 IgSF 패밀리로 부터 유래한다.
- [0346] [321] 구체에 67. 구체에 49-66 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 야생형 IgSF 도메인 및 제2 야생형 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 CD80, CD86, PD-L1, PD-L2, ICOS 리간드, B7-H3, B7-H4, CD28, CTLA4, PD-1, ICOS, BTLA, CD4, CD8-알파, CD8-베타, LAG3, TIM-3, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, CD200R 또는 Nkp30로부터 선택된 IgSF 멤버로부터 유래한다.
- [0347] [322] 구체에 68. 구체에 49-67 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 SEQ ID NOS: 1-27 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열에 함유된 야생형 IgSF 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편에 대해 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0348] [323] 구체에 69. 구체에 49-68 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 B7 패밀리의 멤버로부터 유래한다.
- [0349] [324] 구체에 70. 구체에 69의 일부 추가 구체예들에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 CD80, CD86 또는 ICOSLG로부터 유래한다.
- [0350] [325] 구체에 71. 구체에 49-68 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인은 B7 패밀리의 한 멤버로부터 유래하고 제1 또는 제2 야생형 IgSF 도메인의 다른 하나는 또 다른 IgSF 패밀리로 부터 유래한다.
- [0351] [326] 구체에 72. 구체에 49-68 및 71 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 ICOSLG 및 Nkp30로부터 유래한다.
- [0352] [327] 구체에 73. 구체에 49-68 및 71 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 CD80 및 Nkp30로부터 유래한다.
- [0353] [328] 구체에 74. 구체에 49-73 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 인간 IgSF 멤버이다.
- [0354] [329] 구체에 75. 구체에 49-74 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 각각의 제1 및 제2 야생형 IgSF 도메인은 개별적으로 IgV 도메인, 및 IgC1 도메인, IgC2 도메인 또는 그의 특이적 결합 단편이다.
- [0355] [330] 구체에 76. 구체에 49-75 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인 각각은 개별적으로 변형된 IgV 도메인, 변형된 IgC1 도메인 또는 변형된 IgC2 도메인이거나 또는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 그의 특이적인 결합 단편이다.
- [0356] [331] 구체에 77. 구체에 49-76 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 도메인 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 도메인 중 적어도 하나는 변형된 IgV 도메인이다.
- [0357] [332] 구체에 78. 구체에 49-77 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 20개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0358] [333] 구체에 79. 구체에 49-78 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 10개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0359] [334] 구체에 80. 구체에 49-79 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 1개 및 5개 이하의 아미노산 치환을 포함한다.

- [0360] [335] 구체에 81. 구체에 49-80 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0361] [336] 구체에 82. 구체에 49-81 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 중 적어도 하나는 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0362] [337] 구체에 83. 구체에 49-80 및 82 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인 각각은 개별적으로 그의 동족 결합 파트너 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0363] [338] 구체에 84. 구체에 49-83 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 가용성이다.
- [0364] [339] 구체에 85. 구체에 49-84 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된다.
- [0365] [340] 구체에 86. 구체에 49-85 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 멀티머화 도메인에 연결된다.
- [0366] [341] 구체에 87. 구체에 49-86 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 Fc 도메인 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체에 연결된다.
- [0367] [342] 구체에 88. 구체에 87의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인은 IgG1 도메인, IgG2 도메인이거나 또는 이펙터 기능이 감소된 그의 변이체이다.
- [0368] [343] 구체에 89. 구체에 87 또는 구체에 88의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것이거나; 또는 변이체 Fc 도메인은 포유동물, 임의로 인간의 것인 비변형 Fc 도메인에 비해 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0369] [344] 구체에 90. 구체에 87-89 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, Fc 도메인 또는 그의 변이체는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:226 또는 SEQ ID NO:227에 제시된 것과 적어도 85% 서열 동일성을 나타내는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0370] [345] 구체에 91. 구체에 86-90 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 변이체 CD80 폴리펩타이드는 링커를 통해 간접적으로 연결된다.
- [0371] [346] 구체에 92. 구체에 86-91 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 다이머이다.
- [0372] [347] 구체에 93. 구체에 49-92 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 제1 또는 제2의 비-면역글로불린 변형된 IgSF 도메인과 동일 또는 상이한 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인을 추가로 포함한다.
- [0373] [348] 구체에 94. 구체에 93의 일부 추가 구체예들에서, 하나 이상의 부가적인 비-면역글로불린 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgSF 도메인이다.
- [0374] [349] 구체에 95. 구체에 49-94 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합된 것이다.
- [0375] [350] 구체에 96. 일부 구체예에서, 구체에 1-95 중 어느 하나의 면역조절 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산 분자가 제공된다.
- [0376] [351] 구체에 97. 구체에 96의 일부 추가 구체예들에서, 핵산은 합성 핵산이다.
- [0377] [352] 구체에 98. 구체에 96 또는 구체에 97의 일부 추가 구체예들에서, 핵산은 cDNA이다.
- [0378] [353] 구체에 99. 일부 구체예에서, 구체에 96-98 중 어느 하나의 핵산 분자를 포함하는 벡터가 제공된다.
- [0379] [354] 구체에 100. 구체에 99의 일부 추가 구체예들에서, 벡터는 발현 벡터이다.
- [0380] [355] 구체에 101. 일부 구체예에서, 구체에 99 또는 구체에 100의 벡터를 포함하는 세포가 제공된다.
- [0381] [356] 구체에 102. 구체에 101의 일부 추가 구체예들에서, 세포는 진핵세포 또는 원핵세포이다.

- [0382] [357] 구체예 103. 일부 구체예에서, 구체예 96-98 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 구체예 99 또는 구체예 100의 벡터를 세포에서 단백질이 발현되는 조건 하에 숙주 세포 내로 도입시키는 것을 포함하는, 면역조절 단백질의 생산 방법이 제공된다.
- [0383] [358] 구체예 104. 구체예 103의 일부 추가 구체예들에서, 상기 방법은 세포로부터 면역조절 단백질을 분리 또는 정제하는 것을 추가로 포함한다.
- [0384] [359] 구체예 105. 일부 구체예에서, 구체예 1-95 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 포함하는, 의약 조성물이 제공된다.
- [0385] [360] 구체예 106. 구체예 105의 일부 추가 구체예들에서, 의약 조성물은 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함한다.
- [0386] [361] 구체예 107. 구체예 105 또는 구체예 106의 일부 추가 구체예들에서, 의약 조성물은 멸균된 것이다.
- [0387] [362] 구체예 108. 일부 구체예에서, 구체예 105-107 중 어느 하나의 의약 조성물이 바이알에 포함되어 있는 제조 물품이 제공된다.
- [0388] [363] 구체예 109. 구체예 108의 일부 추가 구체예들에서, 바이알은 밀봉된 것이다.
- [0389] [364] 구체예 110. 일부 구체예에서, 구체예 105-107 중 어느 하나의 의약 조성물 및 사용 지침을 포함하는 키트가 제공된다.
- [0390] [365] 구체예 111. 일부 구체예에서, 구체예 108 또는 구체예 109에 따른 제조 물품 및 사용 지침을 포함하는 키트가 제공된다.
- [0391] [366] 구체예 112. 일부 구체예에서, 구체예 1-95 중 어느 하나의 면역조절 단백질의 치료적 유효량을 대상자에게 투여하는 것을 포함하는, 대상자에 있어서 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다.
- [0392] [367] 구체예 113. 구체예 112의 일부 추가 구체예들에서, 면역 반응의 조절은 대상자의 질환 또는 병태를 치료한다.
- [0393] [368] 구체예 114. 구체예 112 또는 구체예 113의 일부 추가 구체예들에서, 면역 반응은 증가된다.
- [0394] [369] 구체예 115. 구체예 114의 일부 추가 구체예들에서, 질환 또는 병태는 종양 또는 암이다.
- [0395] [370] 구체예 116. 구체예 114 또는 구체예 115의 일부 추가 구체예들에서, 질환 또는 병태는 흑색종, 폐암, 방광암 또는 혈액학적 악성종양으로부터 선택된다.
- [0396] [371] 구체예 117. 구체예 112 또는 구체예 113의 일부 추가 구체예들에서, 면역 반응은 감소된다.
- [0397] [372] 구체예 118. 구체예 117의 일부 추가 구체예들에서, 질환 또는 병태는 염증 질환 또는 병태이다.
- [0398] [373] 구체예 119. 구체예 117 또는 구체예 118의 일부 추가 구체예들에서, 질환 또는 병태는 크론씨병, 궤양성 결장염, 다발경화증, 천식, 류마티스성 관절염, 또는 건선으로부터 선택된다.
- [0399] [374] 구체예 120. 일부 구체예에서, a) 적어도 하나의 비-면역글로불린 변형된 면역글로불린 수퍼패밀리(IgSF) 도메인 또는 그의 특이적인 결합 단편을 포함하는 변형된 단백질을, 상기 단백질이 적어도 2개의 동족 결합 파트너와 결합할 수 있는 조건 하에서 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 접촉시키는 단계로서, 여기서 상기 적어도 하나의 변형된 IgSF 도메인은 야생형 IgSF 도메인에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인 단계; b) 야생형 IgSF 도메인을 포함하는 단백질에 비해, 2개의 동족 결합 파트너들 중 적어도 하나에 대하여 증가된 결합능을 갖는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 단계; 및 c) 적어도 2개의 동족 결합 파트너들과 비경쟁적으로 결합하는 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 선택함으로써, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 단계를 포함하는, 친화성 변형된 면역조절 단백질을 동정하는 방법이 제공된다.
- [0400] [375] 구체예 121. 구체예 120의 일부 추가 구체예들에서, 단계 b)는 야생형 도메인을 포함하는 단백질에 비해 적어도 2개의 동족 결합 파트너들 각각에 대한 결합이 증가된 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 동정하는 것을 포함한다.
- [0401] [376] 구체예 122. 구체예 120 또는 구체예 121의 일부 추가 구체예들에서, 단계 a)에 앞서, 야생형 IgSF 도메

인에 아미노산 치환을 하나 이상 도입시킴으로써, 변형된 IgSF 도메인을 포함하는 변형된 단백질을 생성한다.

- [0402] [377] 구체예 123. 구체예 120-122 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 변형된 단백질은 적어도 2개의 변형된 IgSF 도메인들 또는 그의 특이적인 결합 단편들을 포함하되, 여기서 제1 IgSF 도메인은 제1 야생형-유형의 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하고 제2 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인은 제2 야생형 IgSF 도메인에 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.
- [0403] [378] 구체예 124. 구체예 123의 일부 추가 구체예들에서, 제1 및 제2의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인 각각은 적어도 하나의 상이한 동족 결합 파트너에 특이적으로 결합한다.
- [0404] [379] 구체예 125. 일부 구체예에서, 적어도 하나의 비-면역글로불린 친화성-변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리 (IgSF) 도메인을 포함하는 면역조절 단백질이 제공되되, 여기서 상기 친화성-변형된 IgSF 도메인은 적어도 두 개의 세포-표면 분자종들과 비-경쟁적으로 특이적으로 결합하고, 상기 각각의 분자종은 면역학적 시냅스(IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현되며, 상기 포유동물 세포들 중 하나는 림프구이고 친화성-변형된 IgSF 도메인의 결합에 의해 림프구의 면역학적 활성이 조절되는 것인, 면역조절 단백질이 제공된다.
- [0405] [380] 구체예 126. 구체예 125의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포에 특이적으로 결합한다.
- [0406] [381] 구체예 127. 구체예 125 또는 구체예 126의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성 변형된 IgSF 도메인들을 포함하고 면역조절 단백질은 IS를 형성하는 2개의 포유동물 세포에 특이적으로 결합한다.
- [0407] [382] 구체예 128. 구체예 125-127 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, IgSF 세포 표면 분자종들은 인간 IgSF 멤버들이다.
- [0409] [383] 구체예 129. 구체예 125-128 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 적어도 하나의 친화성 변형된 인간 CD80 도메인을 포함한다.
- [0410] [384] 구체예 130. 구체예 125-129 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 친화성 변형된 포유동물 IgSF 멤버를 포함한다.
- [0411] [385] 구체예 131. 구체예 125-130 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 포유동물 IgSF 멤버는 CD80, PVR, ICOSLG, 또는 HAVCR2 중 적어도 하나를 포함한다.
- [0412] [386] 구체예 132. 구체예 125-131 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역학적 활성은 증강된다.
- [0413] [387] 구체예 133. 구체예 125-132 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역학적 활성은 억제된다.
- [0414] [388] 구체예 134. 구체예 125-133 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 두 개의 포유동물 세포 중 하나는 종양 세포이다.
- [0415] [389] 구체예 135. 구체예 125-134 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 림프구는 NK 세포 또는 T-세포이다.
- [0416] [390] 구체예 136. 구체예 125-135 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 마우스, 래트, 시노말구스 원숭이 또는 인간 세포이다.
- [0417] [391] 구체예 137. 구체예 125-136 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 두 개의 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 10% 내지 90%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0418] [392] 구체예 138. 구체예 125-137 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 정확히 하나의 IgSFS 멤버에 비-경쟁적으로 특이적으로 결합한다.
- [0419] [393] 구체예 139. 구체예 125-138 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 두 개의 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0420] [394] 구체예 140. 구체예 125-139 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 친화성 변형된 IgV, IgC1, 또는 IgC2 도메인이다.

- [0421] [395] 구체에 141. 구체에 125-140 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 야생형 IgSF 도메인과 적어도 하나 및 10개 이하의 아미노산 치환만큼 상이하다.
- [0422] [396] 구체에 142. 구체에 125-141 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 그의 야생형 IgSF 도메인과 적어도 하나의 및 5개 이하의 아미노산 치환만큼 상이하다.
- [0423] [397] 구체에 143. 구체에 125-142 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인은 인간 CD80 IgSF 도메인이다.
- [0424] [398] 구체에 144. 구체에 125-143 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 친화성-변형된 IgSF 도메인들이고, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 IgSF 도메인과 동일한 종이 아니다.
- [0425] [399] 구체에 145. 구체에 125-144 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 결정화가능한 항체 단편(Fc)에 직접 또는 간접적으로 공유 결합한다.
- [0426] [400] 구체에 146. 구체에 125-145 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 약학적으로 허용가능한 담체 내에 있다.
- [0427] [401] 구체에 147. 구체에 125-146 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된 것이다.
- [0428] [402] 구체에 148. 구체에 125-147 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 가용성이다.
- [0429] [403] 구체에 149. 구체에 125-148 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 리포솜 막에 결합된다.
- [0430] [404] 구체에 150. 구체에 125-149 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 분자간 다이설파이드 결합에 의해 이량화된다.
- [0431] [405] 구체에 151. 구체에 125-150 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다.
- [0432] [406] 구체에 152. 일부 구체예에서, 적어도 두 개의 비-면역글로불린 친화성-변형된 면역글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인들을 포함하는 면역조절 단백질이 제공되며, 여기서, 상기 친화성-변형된 IgSF 도메인들 각각은 상이한 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합하고, 여기서 상기 분자종들 각각은 면역학적 시냅스(IS)를 형성하는 두 개의 포유동물 세포들 중 적어도 하나에서 발현하며, 상기 포유동물 세포들 중 하나는 림프구이고, 친화성-변형된 IgSF 도메인의 결합이 림프구의 면역학적 활성을 조절하는 것인 면역조절 단백질이 제공된다.
- [0433] [407] 구체에 153. 구체에 125-152 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 경쟁적으로 결합한다.
- [0434] [408] 구체에 154. 구체에 125-153 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 are not the same species of IgSF 도메인과 동일한 종이 아니다.
- [0435] [409] 구체에 155. 구체에 125-154 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 비-야생형 조합이다.
- [0436] [410] 구체에 156. 구체에 125-155 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 세포 표면 분자종들은 인간 IgSF 멤버들이다.
- [0437] [411] 구체에 157. 구체에 125-156 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 다음 중 적어도 하나로부터 유래한다: CD80, CD86, CD274, PDCD1LG2, ICOSLG, CD276, VTCN1, CD28, CTLA4, PDCD1, ICOS, BTLA, CD4, CD8A, CD8B, LAG3, HAVCR2, CEACAM1, TIGIT, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, 또는 CD200R1.
- [0438] [412] 구체에 158. 구체에 125-157 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 적어도 두 개의 친화성 변형된 포유동물 IgSF 멤버들을 포함한다.
- [0439] [413] 구체에 159. 구체에 125-158 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물의 IgSF 멤버들은 인간 IgSF 멤버들이다.
- [0440] [414] 구체에 160. 구체에 125-159 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물의 IgSF 멤버들은 다음 중

적어도 두 개이다: CD80, CD86, CD274, PDCD1LG2, ICOSLG, CD276, VTCN1, CD28, CTLA4, PDCD1, ICOS, BTLA, CD4, CD8A, CD8B, LAG3, HAVCR2, CEACAM1, TIGIT, PVR, PVRL2, CD226, CD2, CD160, CD200, 또는 CD200R1.

- [0441] [415] 구체에 161. 구체에 125-160 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역학적 활성은 증강된다.
- [0442] [416] 구체에 38. 구체에 125-1 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역학적 활성은 억제된다.
- [0443] [417] 구체에 162. 구체에 125-161 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 두 개의 포유동물 세포들 중 하나는 종양 세포이다.
- [0444] [418] 구체에 163. 구체에 125-162 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 림프구는 NK 세포 또는 T-세포이다.
- [0445] [419] 구체에 164. 구체에 125-163 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 포유동물 세포는 마우스, 래트, 시노물구스 원숭이, 또는 인간 세포이다.
- [0446] [420] 구체에 165. 구체에 125-164 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 야생형 IgSF 도메인의 결합 친화성의 10% 내지 90%를 갖는다.
- [0447] [421] 구체에 166. 구체에 125-165 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 정확히 하나의 세포 표면 분자종들에 특이적으로 결합한다.
- [0448] [422] 구체에 167. 구체에 125-166 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 2개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 중 적어도 하나는 두 개의 세포 표면 분자종들 중 적어도 하나에 대해 그의 야생형 IgSF 도메인의 결합 친화성의 적어도 120%의 결합 친화성을 갖는다.
- [0449] [423] 구체에 168. 구체에 125-167 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 친화성 변형된 IgSF 도메인들은 IgV, IgC1, 또는 IgC2 도메인 중 적어도 하나이다.
- [0450] [424] 구체에 169. 구체에 125-168 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 그의 야생형 IgSF 도메인과 적어도 하나 및 10개 이하의 아미노산 치환기만큼 상이하다.
- [0451] [425] 구체에 170. 구체에 125-169 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 적어도 두 개의 친화성 변형된 IgSF 도메인들 각각은 그의 야생형 IgSF 도메인과 적어도 하나 및 5개 이하의 아미노산 치환기만큼 상이하다.
- [0452] [426] 구체에 171. 구체에 125-170 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 결정화가능한 항체 단편(Fc)에 직접 또는 간접적으로 공유 결합된다.
- [0453] [427] 구체에 172. 구체에 125-171 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 약학적으로 허용가능한 담체 내에 들어있다.
- [0454] [428] 구체에 173. 구체에 125-172 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 단백질은 글리코실화 또는 폐길화된 것이다.
- [0455] [429] 구체에 174. 구체에 125-173 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 단백질은 가용성이다.
- [0456] [430] 구체에 175. 구체에 125-174 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 단백질은 리포솜 막에 결합된다.
- [0457] [431] 구체에 176. 구체에 125-175 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 단백질은 분자간 다이설파이드 결합에 의해 이량화된다.
- [0458] [432] 구체에 177. 구체에 125-176 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 세포 표면 분자종들은 시스 배열 또는 트랜스 배열로 발현된다.
- [0459] [433] 구체에 178. 구체에 125-177 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26, 조합, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0460] [434] 구체에 179. 구체에 125-178 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26, 조합, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0461] [435] 구체에 180. 구체에 125-179 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26, 조합, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.

- [0462] [436] 구체에 181. 구체에 125-180 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26, 조합, 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0463] [437] 구체에 182. 구체에 125-181 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 제2의 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0464] [438] 구체에 183. 구체에 125-182 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 추가로 제2 면역조절 단백질을 포함하되, 여기서 상기 제2 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0465] [439] 구체에 184. 구체에 125-183 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 추가로 제2 면역조절 단백질을 포함하되, 여기서 상기 제2 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0466] [440] 구체에 185. 구체에 125-184 중 어느 하나의 일부 추가 구체예들에서, 면역조절 단백질은 추가로 제2 면역조절 단백질을 포함하되, 여기서 상기 제2 면역조절 단백질은 SEQ ID NOS: 1-26 또는 그의 단편으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는다.
- [0467] [441] 구체에 186. 일부 구체예에서, 구체에 125-185의 어느 하나의 면역조절 단백질을 인코딩하는 재조합 핵산이 제공된다.
- [0468] [442] 구체에 187. 일부 구체예에서, 구체에 186의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터가 제공된다.
- [0469] [443] 구체에 188. 일부 구체예에서, 구체에 187의 발현 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포가 제공된다.
- [0470] [444] 구체에 189. 일부 구체예에서, 면역조절 단백질의 발현 조건 하에 재조합 숙주 세포를 배양하고, 그 안의 재조합 발현 벡터에 의해 인코딩된 면역조절 단백질을 발현시킨 다음, 발현된 재조합 면역조절 단백질을 정제하는 것을 포함하는, 구체에 125-185 중 어느 하나의 면역조절 단백질을 만드는 방법이 제공된다.
- [0471] [445] 구체에 190. 일부 구체예에서, 구체에 125-185 중 어느 하나의 면역조절 단백질의 치료적 유효량을 투여함으로써, 증강 또는 억제된 면역학적 반응을 필요로 하는 포유동물 환자를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0472] [446] 구체에 191. 구체에 190의 일부 추가 구체예들에서, 증강된 면역학적 반응은 환자의 흑색종, 폐암, 방광암, 또는 혈액학적 악성종양을 치료한다.
- [0473] [447] 구체에 192. 구체에 190의 일부 추가 구체예들에서, 억제된 면역학적 반응은 환자의 크론씨병, 궤양성 결장염, 다발경화증, 천식, 류마티스성 관절염, 또는 건선을 치료한다.
- [0474] **VIII. 실시예**
- [0475] [448] 다음의 실시예들은 오직 설명 목적을 위해 포함된 것일 뿐 본 발명의 범위를 한정하려는 의도로 제공된 것이 아니다.
- [0476] [449] 실시예 1-8은 면역 활성화 및 면역 억제 양자 모두에서 이중 역할을 하는 것으로 입증된 면역 시냅스(IS)의 성분들인, 친화성 변형된 CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), ICOSL, 및 Nkp30 면역조절 단백질의 설계, 생성 및 스크리닝을 설명한다. 이 실시예들은 IgSF 도메인들의 친화성 변형에 의해 면역학적 활성을 증가하는 작용과 감소시키는 작용 양자 모두를 수행할 수 있는 단백질들을 생성할 수 있음을 입증하는 것이다. 이러한 연구는 또한 면역조절 활성을 달성하도록 II형 면역조절 단백질을 형성하기 위해 쌍을 이루어(즉, 스택된) 융합된 도메인들의 다양한 조합도 설명하여 주는 것이다.
- [0477] **실시예 1**
- [0478] **IgSF 도메인들의 돌연변이 DNA 구조물의 생성**
- [0479] [450] 실시예 1은 효소 디스플레이 라이브러리로서 효모 표면에서의 번역 및 발현을 위한 인간 CD80, CD86, ICOSL, 및 Nkp30 IgSF 도메인들의 돌연변이 DNA 구조물의 생성을 설명한 것이다.
- [0480] **A. 축퇴 라이브러리 (Degenerate Libraries)**
- [0481] [451] 축퇴 코돈에 의한 완전 또는 부분적 무작위화에 대한 표적 단백질의 특이적 잔기들을 표적화하는 라이브러리를 위해, Integrated DNA Technologies (Coralville, IA)에 인간 CD80 (SEQ ID NO:28), ICOSL (SEQ ID

NO:32), 및 NKp30 (SEQ ID NO:54)의 세포의 도메인들(ECD)용 코딩 DNA를 최대 80 염기쌍(bp) 길이의 오버래핑 올리고뉴클레오타이드 세트로서 주문하였다. 각 ECD의 다양한 변이체 라이브러리의 생성을 위해, 소망되는 올리고뉴클레오타이드들은 아미노산 위치에서 소망되는 축퇴 코돈들을 함유하였다. URL: rosettadesign.med.unc.edu/SwiftLib/의 알고리즘을 이용하여 축퇴 코돈들을 생성하였다.

[0482] [452] 일반적으로, 돌연변이 위치와 축퇴 코돈들은 다음과 같이 선택하였다: 목적하는 표적-리간드 쌍의 결정 구조(CD80, NKp30) 또는 상동성(homology) 모델(ICOSL)을 이용하여 단백질 상호반응 인터페이스에 존재하는 잔기 뿐만 아니라 리간드 접촉 잔기들을 동정하였다. 이 분석은 URL: spdbv.vital-it.ch에서 입수가능한 구조 뷰어를 이용하여 수행하였다. 예를 들어, CTLA4에 결합된 CD80의 결정 구조는 URL: www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1I8L로부터 공개적으로 입수가능하고 표적화 라이브러리는 CTLA4에 대한 개선된 바인더의 선택을 위해 CD80::CTLA4 인터페이스에 기초해서 디자인하였다. 그러나, 리간드 CD28 및 PDL1의 경우 입수가능한 CD80 구조물은 없기 때문에, CD28의 바인더 (CTLA4와 동일한 영역에서 CD80에 결합함) 및 PDL1에 대한 바인더(PDL1이 CTLA4와 동일 부위에 하는지는 알려져 있지 않음)를 선택하는데 있어 역시 동일한 바인더를 이용하였다.

[0483] [453] 라이브러리 디자인의 다음 단계는 보존된 잔기들을 동정하기 위해 인간, 마우스, 래트 및 원숭이의 CD80, ICOSL 또는 NKp30 서열들을 정렬시키는 것이었다. 이 분석에 기초하여, 보존적 아미노산 변화 플러스 야생형 잔기만을 명시한 축퇴 코돈들을 이용하여 보존된 표적 잔기들을 돌연변이시켰다. 보존되지 않은 잔기들은 보다 공격적으로 돌연변이되었지만, 야생형 잔기들도 포함하였다. 표적 단백질의 과도한 돌연변이를 회피하기 위해 야생형 잔기들 역시도 인코딩하는 축퇴 코돈들을 배치하였다. 동일한 이유로, 한 번에 최대 20개의 위치만을 돌연변이 표적으로 삼았다. 이들 잔기들은 접촉 잔기와 비-접촉 인터페이스 잔기들의 조합이었다.

[0484] [454] 올리고뉴클레오타이드들을 멸균수에 용해시키고, 동물 비율로 혼합하고, 95℃로 5분간 가열한 다음 어닐링을 위해 실온으로 서서히 냉각시켰다. 이어서, ECD의 개시 및 종결부에 각각 어닐링하는 ECD-특이적 올리고뉴클레오타이드 프라이머들을 이용하여 PCR 산물을 생성하였다. 이어서 BamH1 및 Kpn1 클로닝 부위를 너머 및 포함하는 pBYDS03 클로닝 벡터 (Life Technologies USA)의 변형된 버전과 40-50 bp만큼 중복되는 ECD-특이적 올리고뉴클레오타이드들을 이용하여, 전 단계로부터의 PCR 산물 100 nm을 증폭시켜 총 5 µg의 DNA를 생성하였다. 두 가지 PCR 모두 OneTaq 2x PCR 마스터 믹스 (New England Biolabs, USA)를 이용한 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)에 의한 것이었다. 제2의 PCR 산물을 PCR 정제 키트(Qiagen, 독일)를 이용하여 정제하고 멸균 탈이온수에 재현탁시켰다.

[0485] [455] 라이브러리 삽입 준비를 위해, 벡터 pBYDS03의 변형된 효모 디스플레이 버전을 BamH1 및 Kpn1 제한 효소 (New England Biolabs, USA)로 절단하고 큰 벡터 단편을 겔-정제한 다음 멸균, 탈이온수에 용해시켰다. 다음 단계를 위해 50 µl 부피의 멸균된 탈이온수에서 12 µg의 라이브러리 DNA와 4 µg의 선형 벡터를 혼합함으로써 전기영동-준비된 DNA를 생성하였다. 표적화 라이브러리를 생성하기 위한 한 가지 별법은 표적 ECD를 올리고뉴클레오타이드 함유 축퇴 코돈들을 이용하여 부위-지향 돌연변이시키는 것이었다(Multisite kit, Agilent, USA). 이 접근법은 돌연변이를 위한 표적 단백질의 특이 스트레치만을 표적화하는 서브라이브러리를 생성하는데 이용되었다. 이 경우, 선택 단계로 진행하기 전에 서브라이브러리들을 혼합하였다. 일반적으로, 라이브러리 크기는 서브라이브러리가 10E4 내지 10E5의 범위 내인 경우를 제외하고, 10E7 내지 10E8 클론 범위였다. CD80, ICOSL, CD86 및 NKp30에 대해 대형 라이브러리를 만들었다. CD80, ICOSL 및 NKp30에 대해 서브라이브러리를 만들었다.

[0486] B. 무작위 라이브러리 (Random Libraries)

[0487] [456] CD80 (SEQ ID NO:28), CD86 (SEQ ID NO: 29), ICOSL (SEQ ID NO:32) 및 NKp30 (SEQ ID NO:54)의 ECD의 변이체들을 동정하기 위해 무작위 라이브러리들도 구축하였다. 야생형 ECD를 인코딩하는 DNA를 변형된 효모 디스플레이 벡터 pBYDS03의 BamH1 및 Kpn1 부위 사이에 클로닝시킨 다음 동일한 제한 효소를 이용하여 방출시켰다. 이어서 방출된 DNA를 Genemorph II 키트 (Agilent, USA)를 이용하여 돌연변이시켜 라이브러리 변이체 1개 당 평균 3 내지 5개의 아미노산 변경을 생성하였다. 이어서 돌연변이된 DNA를 2단계 PCR에 의해 증폭시키고 표적화 라이브러리에 대해 전술한 바와 같이 추가 프로세싱하였다.

[0488] 실시예 2

[0489] DNA 라이브러리의 효모 내로의 도입

[0490] [457] 실시예 2는 CD80, CD86, ICOSL, 및 NKp30 DNA 라이브러리를 효모 내로 도입하는 것을 설명한다.

- [0491] [458] 축퇴 및 무작위 라이브러리 DNA를 효모에 도입하기 위해, 효모 균주 BJ5464 (ATCC.org; ATCC 번호 208288)의 전기영동-컴피턴트 세포를 준비하고, 기본적으로 문헌에 설명된 바와 같이(Colby, D.W. et al. 2004 Methods Enzymology 388, 348-358) 상기 단계로부터의 전기영동-준비된 DNA를 이용하여 Gene Pulser II (Biorad, USA)에서 전기영동 처리하였다. 유일한 예외는 변형된 플라스미드 pBYDS03가 보유하는 LEU2 선택 마커를 수용하기 위해, 형질전환된 세포들을 비-유도성 최소선택 SCD-Leu 배지에서 성장시켰다는 점이다.
- [0492] [459] 라이브러리 크기는 갓 회수된 세포들의 희석물을 SCD-Leu 한천 플레이트 상에 플레이팅한 다음 플레이트 당 적어도 50개의 콜로니를 생성하는 플레이팅으로부터의 단일 콜로니 갯수로부터 라이브러리 크기를 외삽함으로써 결정하였다. 전기영동 처리된 배양체의 나머지를 포화상태까지 성장시키고 이 배양체로부터의 세포들을 한 번 더 동일 배지에서 계대배양하여 형질전환되지 않은 세포의 분획을 최소화시켰다. 라이브러리의 다양성을 유지하기 위해, 계산된 라이브러리 크기보다 적어도 10배 세포를 더 많이 함유하는 접종(inoculum)을 이용하여 이 계대배양 단계를 수행하였다. 2차 포화 배양체로부터의 세포들을 평균 25% (중량/부피) 글리세롤을 함유하는 신선한 배지에 10E10/ml의 밀도가 되도록 재현탁하고 냉동 및 -80℃에서 보관하였다 (냉동 라이브러리 스톱).
- [0493] [460] 1 리터의 SCD-Leu 배지는 14.7 그램의 소듐 시트레이트, 4.29 그램의 시트르산 모노히드레이트, 20 그램의 텍스트로즈, 6.7 그램의 Difco 브랜드 효모 질소 베이스, 및 효모가 없는 1.6 그램의 효모 합성 드롭-아웃 배지 보충물로 구성된다. 배지를 사용하기 전에 0.2 μ M 진공 필터 장치를 이용하여 멸균처리하였다.
- [0494] [461] 라이브러리 크기는 갓 회수된 세포들의 희석물을 SCD-Leu 한천 플레이트 상에 플레이팅한 다음 플레이트 당 적어도 50개의 콜로니를 생성하는 플레이팅으로부터의 단일 콜로니 갯수로부터 라이브러리 크기를 외삽함으로써 결정하였다.
- [0495] [462] 2개 이상의 상이한 라이브러리 클론을 함유하는 세포들로부터 플라스미드를 분리하기 위해, 라이브러리 크기의 10배에 해당하는 갯수의 세포들을 SCD-Leu 배양체로부터 밤새 취하여 신선한 SCD-Leu 배지로 1/100 계대 배양하고 밤새 성장시켰다. 이 밤샘 배양체로부터 얻은 세포들을 평균 25% (중량/부피) 글리세롤에 10E10/ml의 밀도가 되도록 재현탁하고 냉동 및 -80℃에서 보관하였다 (냉동 라이브러리 스톱).
- [0496] **실시예 3**
- [0497] **효모 선택**
- [0498] [463] 실시예 3은 CD80, CD86, ICOSL, 및 NKp30의 친화성 변형된 변이체들을 발현하는 효모의 선택에 설명한 것이다.
- [0499] [464] A 라이브러리 크기의 적어도 10배에 해당하는 갯수의 세포들을 개별 라이브러리 스톱으로부터 해동하여, 비-유도 SCD-Leu 배지에 0.1 x 10E6 세포/ml로 현탁하고 밤새 성장시켰다. 다음 날, 라이브러리 크기의 10배에 해당하는 갯수의 세포들을 2000 RPM에서 2분간 원심분리하고 유도 SCD-Leu 배지에 0.1 x 10E6 세포/ml로 재현탁하였다. SCD-Leu 유도 배지 1 리터는 물에 5.4 그램 Na₂HPO₄, 8.56 그램의 NaH₂PO₄·H₂O, 20 그램의 갈락토스, 2.0 그램의 텍스트로즈, 6.7 그램의 Difco 효모 질소 베이스, 및 류신이 없는 1.6 그램의 효모 합성 드롭 아웃 보충물이 용해되어 있는 것으로 구성되며 0.22 μ m 막 필터 장치를 통해 멸균되었다. 배양체를 20℃에서 2일간 성장시켜 효모 세포 표면에 라이브러리 단백질의 발현을 유도하였다.
- [0500] [465] 비-바인더를 감소시키고 그의 외인성 재조합 카운터-구조 단백질 결합능을 갖는 모든 CD80, CD86, ICOSL 또는 NKp30 변이체들을 농축하기 위해 세포들을 자석 비드로 프로세싱하였다. 예를 들어, 효모 디스플레이 표적화되거나 또는 무작위 CD80 라이브러리들을 CD28, CTL-4, PD-L1, ICOS, 및 B7-H6 각각에 대해 별도로 선택하였다. 이어서 개선된 바인더 기능을 나타내는 효모 세포의 분획을 농축하기 위해 외인성 카운터-구조 단백질 염색을 이용하여 2 내지 3 라운드의 유세포분석 소팅을 실시하였다. 자석 비드 농축 및 유세포 분석에 의한 선택은 기본적으로 문헌 [Keith D. Miller,1 Noah B. Pefaur,2 및 Cheryl L. Baird1 Current Protocols in Cytometry 4.7.1-4.7.30, July 2008]에 설명되어 있다.
- [0501] [466] CD80, CD86, ICOSL, 및 NKp30 라이브러리를 이용하여 표적 리간드 단백질들을 다음과 같이 R&D Systems (USA)로부터 공급하였다: 인간 rCD28.Fc (즉, 재조합 CD28-Fc 융합 단백질), rPDL1.Fc, rCTLA4.Fc, rICOS.Fc, 및 rB7H6.Fc. 자성 스트렙타비딘 비드를 New England Biolabs, USA로부터 구득하였다. 카운터-구조 단백질의 바이오티닐화를 위해, 바이오티닐화 키트 cat# 21955, Life Technologies, USA를 이용하였다. 2-색 유세포분석 소팅을 위해, Becton Dickinson FACS Aria II 소터를 이용하였다. CD80, CD86, ICOSL, 또는 NKp30 디스플레이 수준을 Alexafluor 488 (Life Technologies, USA)이 표시된 항-헤마글루티닌 항체를 이용하여 모니터링하였다.

리간드 결합 Fc 융합 단백질 rCD28.Fc, rCTLA4.Fc, rPD1.Fc, rICOS.Fc, 또는 rB7-H6.Fc를 PE 컨쥬게이트된 인간 Ig 특이 염소 Fab (Jackson ImmunoResearch, USA)를 이용하여 검출하였다. 정면 스캐터 (FSC) / 측면 스캐터 (SSC) 파라미터를 이용하여 이중 효모를 배제하고(gated out), 소트 게이트들은 FL1에서 보다 제한된 태그 발현 결합을 지니는 FL4에서 검출된 더 높은 리간드 결합에 기초하였다.

[0502] [467] 유세포 분석 소트로부터의 효모 아웃풋을 보다 높은 특이적 결합 친화성에 대해 분석하였다. 소트 효모 아웃풋을 증식 및 재-유도시켜 이들이 인코딩하는 특징 IgSF 친화성 변형된 도메인 변이체들을 발현시켰다. 이어서 이 집단을 모균주, 야생형 효모 균주 또는 비드 아웃풋 효모 집단과 같은 다른 선택된 아웃풋과, 유세포 분석법에 의해 비교할 수 있다.

[0503] [468] ICOSL을 위해, 항-HA (헤마글루티닌) 태그 발현 및 리간드 결합 검출에 부차적인 항-인간 Fc를 이용하여 각 집단을 이중 염색함으로써 rICOS.Fc, rCD28.Fc, 및 rCTLA4.Fc 각각의 결합에 대해 제2 소트 아웃풋(F2)을 모 ICOSL 효모와 비교하였다.

[0504] [469] ICOS에 대한 결합에 대해 선택된 ICOSL 효모 변이체들의 경우, F2 소트 아웃풋은 5.6 nM rICOS.Fc로 염색된 경우 평균 형광 강도(MFI)값이 997인 반면, 모 ICOSL 균주 MFI는 동일 농도의 rICOS.Fc로 염색된 경우 397로 측정되었다. 이는 선택된 이 F2 클론 풀에서 평균 결합의 대략 3배 향상을 나타내며, 상기 풀로부터의 개별 클론들이 개별 시험될 경우 훨씬 우수한 개선된 MFI/친화성을 나타낼 것으로 예측된다.

[0505] [470] CD28에 대한 결합에 대해 선택된 ICOSL 효모 변이체의 경우, F2 소트 아웃풋은 100nM rCD28.Fc로 염색된 경우 MFI 값이 640인 반면 모 ICOSL 균주의 MFI는 동일 농도의 rCD28.Fc로 염색된 경우 29로 측정되었다 (22배 개선). CTLA4에 대한 결합에 대해 선택된 ICOSL 효모 변이체의 경우, F2 소트 아웃풋은 100nM rCTLA4.Fc로 염색시 MFI 값이 940인 반면, 모 ICOSL 균주의 MFI는 동일 농도의 rCTLA4.Fc로 염색시 29였다 (32배 개선).

[0506] [471] In the case of NKp30 yeast variants selected for binding to B7-H6에 대한 결합에 대하여 선택된 NKp30 효모 변이체의 경우, F2 소트 아웃풋은 16.6nM rB7H6.Fc로 염색된 경우 MFI 값이 533인 반면, 모 NKp30 균주의 MFI는 동일 농도의 rB7H6.Fc로 염색시 90이었다 (6배 개선).

[0507] [472] FL1 상에서 항-HA 태그 항체를 이용하여 측정시 상기 설명된 모든 F2 아웃풋의 MFI 값이 증가하지 않았고 종종 야생형 균주에 비해 감소하였다는 것은 중요한데, 이는 증가된 결합이 효모 표면 상의 선택된 변이체들의 증가된 발현의 함수가 아니라는 것과 높은 리간드 결합을 갖는 중간 내지 낮은 발현체들만을 선택하는 게이팅 전략이 타당함을 입증하는 것이다.

[0508] 실시예 4

[0509] Reformatting Selection Outputs as Fc-Fusions and in Various Immunomodulatory Protein Types

[0510] [473] 실시예 4는 선택 아웃풋을, Fc 분자에 융합된, 친화성 변형된 (변이체) 세포의 도메인 (ECD) of CD80 또는 ICOSL (변이체 ECD-Fc 융합 분자들)을 함유하는 면역조절 단백질로서 재포맷하는 것을 설명한다.

[0511] [474] Output 최종 유세포 분석 CD80 및 ICOSL 소트로부터의 아웃풋 세포들을 SCD-Leu 배지에서 최종 밀도로 성장시켰다. 각 아웃풋으로부터의 플라스미드 DNA를 효소 플라스미드 DNA 분리 키트 (Zymoresearch, USA)를 이용하여 분리하였다. Fc 융합을 위해, 선택된 Fc 융합 벡터 내로의 클로닝에 적합한 제한효소 부위가 부가된 PCR 프라이머들을 이용하여, 돌연변이 표적 ECD을 위한 코딩 DNA를 플라스미드 DNA 프렘으로부터 회분식-증폭시켰다. 제한효소 절단 후, PCR 산물을 적절한 Fc 융합 벡터 내로 접합시킨 다음 공급자 지침에 따라 균주 XL1 Blue E. Coli (Agilent, USA) 또는 NEB5알파 (New England Biolabs) 내로 화학적 형질전환시켰다. 예시적인 Fc 융합 벡터는 pFUSE-hIgG1-Fc2 (Invivogen, USA)이다.

[0512] [475] 형질전환 반응 회석물을 100 µg/ml 카르베니실린 (Teknova, USA)을 함유하는 LB-한천 상에 플레이팅하여 단일 콜로니를 생성하였다. 이어서 각 형질전환으로부터 최대 96 콜로니를 96 웰 플레이트 중 LB-브로쓰 (Teknova cat # L8112) 에서 37℃로 밤새 포화되도록 배양하고 모든 클론 내의 돌연변이(들)을 동정하기 위해 각 웰로부터 소량의 분주액을 취해 ECD 삽입물의 DNA 시퀀싱하였다. DNA 시퀀싱을 위한 샘플 준비는 서비스 제공자(Genewiz; South Plainfield, NJ)가 제공한 프로토콜을 이용하여 수행하였다. DNA 시퀀싱을 위해 샘플을 수거한 후 최종 글리세롤 함량이 25%가 되도록 나머지 배양액에 글리세롤을 첨가하고 마스터 플레이트로서 나중에 사용하기 위해 -20℃에서 플레이트를 보관하였다 (후술 내용 참조). 별법으로, 일회용 96 웰 레플리케이터(VWR, USA)를 이용하여 배양된 액체 배양액으로부터 고정 한천 플레이트로 복제함으로써 DNA 시퀀싱을 위한 샘플을 생성하였다. 이들 플레이트들을 밤새 인큐베이션하여 성장 패치를 만들고 Genewiz에 의해 명시된 바와 같이

Genewiz에 플레이트들을 제출하였다.

- [0513] [476] Genewiz-생성된 DNA 시퀀싱 데이터를 분석하여 목적하는 클론을 동정한 후, 목적하는 클론들을 마스터 플레이트로부터 회수하고 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 카르베니실린 (Teknova, USA)를 함유하는 5 ml의 액체 LB-브로쓰에서 소정 밀도로 개별적으로 성장시킨 다음 이어서 각 배양체 2 ml씩을, Pureyield 키트 (Promega)와 같은 표준 키트를 이용하여 대략 10 μg 의 각 클론의 미니프랩 플라스미드 DNA를 제조하는데 사용하였다. 목적하는 클론은 일반적으로 다음 단계에 따라 동정하였다. 먼저, DNA 서열 데이터 파일을 Genewiz 웹사이트로부터 다운로드하였다. 이어서 모든 서열들을 ECD 코딩 영역 시작 부위에서 개시되도록 수동으로 조작하였다. 이어서 조작된 서열들을 URL: www.ebi.ac.uk/Tools/st/emboss_transeq/로부터 입수가 가능한 적절한 프로그램을 이용하여 배치-번역하였다. 이어서 번역된 서열들을 URL: multalin.toulouse.inra.fr/multalin/multalin.html에서 입수가 가능한 적절한 프로그램을 이용하여 정렬시켰다.
- [0514] [477] 이어서 목적하는 클론들을 다음 기준에 따라 동정하였다: 1.) 동일한 클론은 정렬 중 적어도 2회 나타나고 및 2.) 돌연변이는 정렬 중 적어도 2회 나타나며 종기로는 서로 다른 클론들에서 나타난다. 이들 기준 중 적어도 하나를 만족하는 클론들은 개선된 결합으로 인해, 본 발명의 소팅 프로세스에 의해 농축된 클론들이었다.
- [0515] [478] 적어도 하나의 친화성-변형된 도메인을 갖는 CD80 또는 ICOSL의 ECD를 함유하는 면역조절 단백질을 생성하기 위해, 인코딩 핵산 분자를 생성하여 다음과 같이 디자인된 단백질을 인코딩하였다: 시그널 펩타이드 다음에 변이체(돌연변이) ECD 다음에 3개 알라닌(AAA) 링커 다음에 SEQ ID NO: 226에 제시된 야생형 인간 IgG1 Fc에 대해 돌연변이 N82G를 함유하는 인간 IgG1 Fc. 상기 구조물은 시스테인과 공유 결합을 형성할 수 있는 항체 경쇄를 일절 포함하지 않으므로, 인간 IgG1 Fc는 SEQ ID NO: 226에 제시된 야생형 또는 변형되지 않은 Fc에 비해 5 위치의 시스테인 잔기가 세린 잔기로 치환된 (C5S) 것이다.
- [0516] [479] 이에 더해, 후술하는 실시예 8은 함께 연결되어 Fc에 융합된 동정된 변이체 CD80, CD86, ICOSL, 및 Nkp30 분자들로부터의 적어도 2개의 상이한 친화성 변형된 도메인들을 함유하는 스택 구조물로서 생성된 추가적인 면역조절 단백질들을 설명한다.
- [0517] **실시예 5**
- [0518] **Fc-융합체의 발현 및 정제**
- [0519] [480] 실시예 5는 변이체 ECD CD80, CD86, ICOSL, 및 Nkp30을 함유하는 Fc-융합 단백질들의 대량 발현 및 정제 처리를 설명한다.
- [0520] [481] 제조합 변이체 Fc 융합 단백질들을 Expi293 발현 시스템 (Invitrogen, USA)을 이용하여 만들었다. 이전 단계로부터 얻은 4 μg 의 각 플라스미드 DNA를 200 μl Opti-MEM (Invitrogen, USA)에 첨가하고 이와 동시에 10.8 μl ExpiFectamine을 또 다른 200 μl Opti-MEM에 첨가하였다. 5분 후, 200 μl 의 플라스미드 DNA를 200 μl 의 ExpiFectamine과 혼합하고 이 혼합물을 세포에 첨가하기 전에 추가로 20분간 더 인큐베이션하였다. 천만개의 Expi293 세포들을 3.4ml 부피의 Expi293 배지 (Invitrogen, USA) 내, 멸균된 10 ml, 원뿔형 바닥을 갖는 깊은 24웰 배양 플레이트 (Thomson Instrument Company, USA)의 각각의 별도 웰에 분주하였다. 95% 습도 및 8% CO_2 로 설정된 포유동물 세포 배양 인큐베이터에서 플레이트들을 5일간 120 RPM으로 진탕시켰다. 5일의 인큐베이션 후, 세포들을 펠릿화하고 배양 상등액을 제거하였다.
- [0521] [482] 제조업체 프로토콜(카탈로그 넘버 45202, Life Technologies, USA)을 이용하여 고처리량 96 웰 단백질 A 정제 키트를 이용함으로써 단백질을 정제하였다. 제조업체 프로토콜을 이용하여 96 웰 스핀 탈염 플레이트 (카탈로그 넘버 89807, Life Technologies, USA)를 이용하여 결과적인 용리 분획들의 완충액을 PBS로 교체하였다. 정제된 단백질을 Nanodrop 장치 (Thermo Fisher Scientific, USA)에 의해 측정되는 280 nm 흡광도를 이용하여 정량하고, 변성 및 환원 조건 하에 NUPAGE 프리-캐스트, 폴리아크릴아미드 겔 (Life Technologies, USA) 상에 5 μg 의 단백질을 로딩한 다음 겔 전기영동함으로써 단백질의 순도를 평가하였다. 표준 쿠마씨 염색을 이용하여 겔에서 단백질을 가시화하였다.
- [0522] **실시예 6**
- [0523] **친화성-성숙된(Affinity-Matured) IgSF 도메인-함유 분자들의 결합 및 활성 평가**
- [0524] **A. 세포-발현된 카운터 구조에 대한 결합**
- [0525] [483] 이 실시예는 동족 결합 파트너들에 대한 CD80 및 ICOSL 도메인 변이체 면역조절 단백질들의 특이성 및 친

화성을 보여주기 위한 Fc-융합 결합 연구를 설명한다.

[0526] [484] 동족 결합 파트너들을 발현하는 세포를 생산하기 위해, 인간 CD28, CTLA4, PD-L1, ICOS, 및 B7-H6 각각에 대한 전장 포유동물 표면 발현 구조물을 pcDNA3.1 발현 벡터 (Life Technologies)에서 디자인하여 Genscript, USA로부터 공급받았다. 상기 설명된 Expi293F 단기 형질감염 시스템(Life Technologies, USA)을 이용하여 결합 연구를 수행하였다. 실험에 필요한 세포수를 결정하고 제조업체의 권장 프로토콜을 이용하여 약 30 ml 규모의 형질감염을 수행하였다. 각각의 CD28, CTLA-4, PD-L1, ICOS, B7-H6 또는 모형(mock) 30 ml 형질감염을 위해, 7천5백만개의 Expi293F 세포들을 30 μ g 발현 구조물 DNA 및 1.5ml의 희석된 ExpiFectamine 293 시약과 함께 48 시간 동안 인큐베이션하고, 이 동안 염색을 위해 세포들을 수확하였다.

[0527] [485] 유세포 측정에 의한 염색을 위해, 적절한 단기 형질감염 또는 음성 대조군의 200,000개 세포들을 96 웰 둥근바닥 플레이트에 플레이팅하였다. 세포들을 스핀 다운시키고 염색 완충액 (PBS (인산염 완충염수), 1% BSA (소형청 알부민), 및 0.1% 소듐 아자이드)에 20분간 재현탁시켜 비-특이적인 결합을 차단하였다. 그 후, 세포들을 다시 원심분리하고, 각 후보 CD80 변이체 Fc, ICOSL 변이체 Fc, 또는 스택된 IgSF 변이체 Fc 융합 단백질의 실험에 따라, 50 μ l 중 100nM 내지 1nM 변이체 면역조절 단백질을 함유하는 염색 완충액에 재현탁하였다. 얼음에서 일차 염색을 45분간 수행하고, 그에 앞서, 염색 완충액에 세포들을 2회 세척하였다. PE-컨쥬게이트된 항-인간 Fc (Jackson ImmunoResearch, USA)를 50 μ l 염색 완충액에 1: 150으로 희석하고 세포에 첨가한 다음 다시 30분간 얼음 위에서 인큐베이션하였다. 2차 항체를 2회 세척하고 세포들을 4% 포름알데히드/PBS에 고정시킨 다음 샘플을 FACSscan 유세포분석기 (Becton Dickinson, USA) 상에서 분석하였다.

[0528] [486] 평균 형광 강도(MFI)를 각 형질감염체 및 음성 모 세포주에 대해 Cell Quest Pro 소프트웨어 (Becton Dickinson, USA)를 이용하여 계산하였다.

[0529] B. 바이오활성 특징화

[0530] [487] 이 실시예는 인간 일차 T 세포 시험관내 분석을 이용한 Fc-융합 변이체 단백질 바이오활성 특징화에 관하여 설명한다.

[0531] 1. 림프구 혼합 배양반응 (Mixed Lymphocyte Reaction: MLR)

[0532] [488] 가용성 rICOSL.Fc 또는 rCD80.Fc 바이오활성을 인간 림프구 혼합 배양반응 (MLR)을 이용하여 검사하였다. PBMC (BenTech Bio, USA)로부터 분리된 단핵세포들을, 생체외에서 15 배지(Lonza, Switzerland) 중 500U/ml rIL-4 (R&D Systems, USA) 및 250U/ml rGM-CSF (R&D Systems, USA)와 함께 시험관내에서 7일간 배양함으로써 인간 일차 수지상 세포(DC)를 생성하였다. 10,000개의 성숙한 DC 및 100,000개의 정제된 동종이형(allogeneic) CD4+ T 세포들 (BenTech Bio, USA)을, 200 μ l 최종 부피의 Ex-Vivo 15 배지 중 96 웰 둥근바닥 플레이트에서 ICOSL 또는 CD80 변이체 Fc 융합 단백질 및 대조군과 함께 공동-배양시켰다. 제 5일에, 배양 상등액 중 IFN-감마 분비를 Human IFN-감마 DuoSet ELISA 키트 (R&D Systems, USA)를 이용하여 분석하였다. 광학 밀도를 VMax ELISA Microplate Reader (Molecular Devices, USA)로 측정하고 IFN-감마 Duo-세트 키트 (R&D Systems, USA)에 포함된, 적정된 rIFN-감마 스탠다드에 대해 정량하였다.

[0533] 2. 항-CD3 공동고정화 분석

[0534] [489] ICOSL 및 CD80 Fc 융합 변이체들의 공동자극 바이오활성을 항-CD3 공동고정화(coimmobilization) 분석으로 탐지하였다. 1nM 또는 4nM 마우스 항-인간 CD3 (OKT3, Biolegends, USA)을 1nM 내지 80nM rICOSL.Fc 또는 rCD80.Fc 변이체 단백질들과 함께 PBS에 희석하였다. 이 혼합물을 조직 배양체로 처리된 평평한 바닥 96 웰 플레이트(Corning, USA)에 밤새 첨가하여 플레이트의 웰에 대한 자극성 단백질이 부착을 용이하게 하였다. 다음 날, 미결합 단백질을 플레이트로부터 씻어내고 100,000개의 정제된 인간 범(pan) T 세포들 (BenTech Bio, US) 또는 인간 T 세포클론 BC3 (Astarte Biologics, USA)을 최종 부피 200 μ l의 Ex-Vivo 15 배지 (Lonza, Switzerland) 내로 각 웰에 첨가하였다. 배양 상등액을 수확하기 전에 세포들을 3일간 배양하고 전술한 바와 같이 인간 IFN-감마 수준을 DuoSet ELISA 키트 (R&D Systems, USA)를 이용하여 측정하였다.

[0535] C. 결과

[0536] [490] 예시적으로 시험된 변이체들에 대한 결합 및 활성 연구 결과를 표 6-8에 나타내었다. 특히, 표 6은 해당 동족 구조물 CD28에 대한 친화성-성숙체의 스크리닝 과정에서 선택된 CD80의 ECD에서의 예시적인 IgSF 도메인 아미노산 치환(대체)을 나타낸다. 표 7은 해당 동족 구조물 PD-L1에 대한 친화성-성숙체의 스크리닝 과정에서 선택된 CD80의 ECD에서의 예시적인 IgSF 도메인 아미노산 치환(대체)을 나타낸다. 표 8은 해당 동족 구조물들

ICOS 및 CD28에 대한 친화성-성숙체의 스크리닝 과정에서 선택된 ICOSL의 ECD에서의 예시적인 IgSF 도메인 아미노산 치환(대체)을 나타낸다. 각각의 표에서, 예시적인 아미노산 치환들은 다음과 같이, 각 비변형 레퍼런스 ECD 서열에 대응하는 아미노산 위치 번호로 나타낸다. 예를 들어, 표 6 및 표 7에서 비변형 레퍼런스 ECD 서열은 SEQ ID NO:28에 제시된 비변형 CD80 ECD 서열이고 표 8의 비변형 레퍼런스 ECD 서열은 비변형 ICOSL ECD 서열 (SEQ ID NO:32)이다. 아미노산 위치는 중앙에 표시하였고, 대응하는 비변형(예컨대 야생형) 아미노산은 숫자 앞에, 동정된 변이체 아미노산 치환은 숫자 다음에 나타내었다. 컬럼 2에는 각각의 변이체 ECD-Fc 융합 분자에 대한 변이체 ECD의 SEQ ID NO 동정자(identifier)를 기재하였다.

[0537]

[491] 동족 카운터 구조 리간드를 발현하도록 유전자 조작된 세포들에 대한 각 변이체 Fc-융합 분자의 결합에 대한 평균 형광 강도(MFI) 값 및 아미노산 치환(들)을 함유하지 않는 대응하는 비변형 ECD-Fc 융합 분자의 동일한 세포-발현된 카운터 구조 리간드에 대한 결합과 비교한 MFI의 비율(ratio)에 의해 측정되는 바와 같은 결합 활성 역시도 나타내었다. T 세포의 활성을 조절하는 변이체 Fc-융합 분자들의 기능 활성 역시도 i) 항-CD3과 함께 공동 고정된 표시된 변이체 ECD-Fc 융합 분자와 함께 또는 ii) MLR 분석에서 표시된 변이체 ECD-Fc 융합 분자와 함께 생성된 배양 상등액 중 IFN-감마의 계산된 수준 (pg/ml)에 기초하여 나타내었다. 이들 표들은 또한 두 가지 모두의 기능 분석에 있어서 대응하는 비변형 ECD-Fc와 비교되는 각 변이체 ECD-Fc에 의해 생산된 IFN-감마의 비율도 나타낸다.

[0538]

[492] 나타난 바와 같이, 선택 결과 적어도 하나, 그리고 몇몇 경우 두 개 이상의 동족 카운터 구조 리간드에 대해 증가된 결합을 나타내는 친화성-변형된 CD80 또는 ICOSL IgSF 도메인 변이체들이 몇 개 동정되었다. 이에 더해, 이 결과는 변이체 분자들의 친화성 변형이 분자의 포맷에 따라 면역학적 활성을 증가시키기도 하고 감소시키기도 하는 두 가지 개선된 활성을 모두 나타냈다는 것을 보여주었다. 예를 들어, 리간드의 공동 고정화는 세포와의 다가 상호반응을 제공하여 아미노산 치환(들)을 함유하지 않는 비변형 (예컨대 야생형) ECD-Fc 분자에 비해 T 세포 활성의 증가 및 아고니스트 활성을 선호할 가능성이 높다. 그러나, 분자가 용액 중에 2가 Fc 분자로서 제공될 경우, 동일한 IgSF 도메인 변이체는 아미노산 치환(들)을 함유하지 않는 비변형 (예컨대 야생형) ECD-Fv 분자에 비해 T 세포 활성을 감소시키는 길항 활성을 나타내었다.

표 6: CD 28 에 대하여 선택된 CD80 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.

CD80 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합			항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		CD28 MFI (모 비율)	CTLA-4 MFI (모 비율)	PD-L1 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
L70Q/A91G	55	125 (1.31)	283 (1.36)	6 (0.08)	93 (1.12)	716 (0.83)
L70Q/A91G/T130A	56	96 (1.01)	234 (1.13)	7 (0.10)	99 (1.19)	752 (0.87)
L70Q/A91G/I118A/ T120S/T130A	57	123 (1.29)	226 (1.09)	7 (0.10)	86 (1.03)	741 (0.86)
V4M/L70Q/A91G/ T120S/T130A	58	89 (0.94)	263 (1.26)	6 (0.09)	139 (1.67)	991 (1.14)
L70Q/A91G/T120S/ T130A	59	106 (1.12)	263 (1.26)	6 (0.09)	104 (1.25)	741 (0.86)
V20L/L70Q/A91S/ T120S/T130A	60	105 (1.11)	200 (0.96)	9 (0.13)	195 (2.34)	710 (0.82)
S44P/L70Q/A91G/ T130A	61	88 (0.92)	134 (0.64)	5 (0.07)	142 (1.71)	854 (0.99)
L70Q/A91G/E117G/ T120S/T130A	62	120 (1.27)	193 (0.93)	6 (0.08)	98 (1.05)	736 (0.85)
A91G/T120S/ T130A	63	84 (0.89)	231 (1.11)	44 (0.62)	276 (3.33)	714 (0.82)
L70R/A91G/T120S/ T130A	64	125 (1.32)	227 (1.09)	6 (0.09)	105 (1.26)	702 (0.81)
L70Q/E81A/A91G/ T120S/I127T/ T130A	65	140 (1.48)	185 (0.89)	18 (0.25)	98 (1.18)	772 (0.89)
L70Q/Y87N/A91G/ T130A	66	108 (1.13)	181 (0.87)	6 (0.08)	136 (1.63)	769 (0.89)
T28S/L70Q/A91G/ E95K/T120S/T130A	67	32 (0.34)	65 (0.31)	6 (0.08)	120 (1.44)	834 (0.96)
N63S/L70Q/A91G/ T120S/T130A	68	124 (1.30)	165 (0.79)	6 (0.08)	116 (1.39)	705 (0.81)
K36E/I67T/L70Q/ A91G/T120S/ T130A/N152T	69	8 (0.09)	21 (0.10)	5 (0.08)	53 (0.63)	852 (0.98)
E52G/L70Q/A91G/ T120S/T130A	70	113 (1.19)	245 (1.18)	6 (0.08)	94 (1.13)	874 (1.01)
K37E/F59S/L70Q/ A91G/T120S/ T130A	71	20 (0.21)	74 (0.36)	6 (0.08)	109 (1.31)	863 (1.00)
A91G/S103P	72	39 (0.41)	56 (0.27)	9 (0.13)	124 (1.49)	670 (0.77)
K89E/T130A	73	90	148	75	204	761

[0539]

표 6: CD 28 에 대하여 선택된 CD80 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.

CD80 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합			항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		CD28 MFI (모 비율)	CTLA-4 MFI (모 비율)	PD-L1 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
		(0.95)	(0.71)	(1.07)	(2.45)	(0.88)
A91G	74	96 (1.01)	200 (0.96)	85 (1.21)	220 (2.65)	877 (1.01)
D60V/A91G/T120S/ T130A	75	111 (1.17)	222 (1.07)	12 (0.18)	120 (1.44)	744 (0.86)
K54M/A91G/T120S	76	68 (0.71)	131 (0.63)	5 (0.08)	152 (1.83)	685 (0.79)
M38T/L70Q/E77G/ A91G/T120S/ T130A/N152T	77	61 (0.64)	102 (0.49)	5 (0.07)	119 (1.43)	796 (0.92)
R29H/E52G/L70R/ E88G/A91G/T130A	78	100 (1.05)	119 (0.57)	5 (0.08)	200 (2.41)	740 (0.85)
Y31H/T41G/L70Q/ A91G/T120S/ T130A	79	85 (0.89)	85 (0.41)	6 (0.08)	288 (3.47)	782 (0.90)
V68A/I10A	80	103 (1.08)	233 (1.12)	48 (0.68)	163 (1.96)	861 (0.99)
S66H/D90G/T110A/ F116L	81	33 (0.35)	121 (0.58)	11 (0.15)	129 (1.55)	758 (0.88)
R29H/E52G/T120S/ T130A	82	66 (0.69)	141 (0.68)	11 (0.15)	124 (1.49)	800 (0.92)
A91G/L102S	83	6 (0.06)	6 (0.03)	5 (0.08)	75 (0.90)	698 (0.81)
I67T/L70Q/A91G/ T120S	84	98 (1.03)	160 (0.77)	5 (0.08)	1751 (21.1)	794 (0.92)
L70Q/A91G/T110A/ T120S/T130A	85	8 (0.09)	14 (0.07)	5 (0.07)	77 (0.93)	656 (0.76)
M38V/T41D/M43I/ W50G/D76G/V83A/ K89E/T120S/T130A	86	5 (0.06)	8 (0.04)	8 (0.11)	82 (0.99)	671 (0.78)
V22A/L70Q/S121P	87	5 (0.06)	7 (0.04)	5 (0.07)	105 (1.27)	976 (1.13)
A12V/S15F/Y31H/ T41G/T130A/P137L/ N152T	88	6 (0.06)	6 (0.03)	5 (0.08)	104 (1.25)	711 (0.82)
I67F/L70R/E88G/ A91G/T120S/T130A	89	5 (0.05)	6 (0.03)	6 (0.08)	62 (0.74)	1003 (1.16)
E24G/L25P/L70Q/ T120S	90	26 (0.27)	38 (0.18)	8 (0.11)	101 (1.21)	969 (1.12)
A91G/F92L/F108L/ T120S	91	50 (0.53)	128 (0.61)	16 (0.11)	59 (0.71)	665 (0.77)
WT CD80	28	95 (1.00)	208 (1.00)	70 (1.00)	83 (1.00)	866 (1.00)

[0540]

표 7: PD-L1 에 대하여 선택된 CD80 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.						
CD80 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합			항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		CD28 MFI (모 비율)	CTLA-4 MFI (모 비율)	PD-L1 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
R29D/Y31L/Q33H/ K36G/M38I/ T41A/ M43R/M47T/E81V/ L85R/K89N/A91T/ F92P/K93V/ R94L/ I118T/N149S	92	1071 (0.08)	1089 (0.02)	37245 (2.09)	387 (0.76)	5028 (0.26)
R29D/Y31L/Q33H/ K36G/M38I/T41A/ M43R/M47T/E81V/ L85R/K89N/A91T/ F92P/K93V/R94L/ N144S/N149S	93	1065 (0.08)	956 (0.02)	30713 (1.72)	400 (0.79)	7943 (0.41)
R29D/Y31L/Q33H/ K36G/M38I/T41A/ M42T/M43R/M47T/ E81V/L85R/K89N/ A91T/F92P/K93V/ R94L/L148S/N149S	94	926 (0.07)	954 (0.02)	47072 (2.64)	464 (0.91)	17387 (0.91)
E24G/R29D/Y31L/ Q33H/K36G/M38I/ T41A/M43R/M47T/ F59L/E81V/L85R/ K89N/A91T/F92P/ K93V/R94L/H96R	95	1074 (0.08)	1022 (0.02)	1121 (0.06)	406 (0.80)	13146 (0.69)
R29D/Y31L/Q33H/ K36G/M38I/T41A/ M43R/M47T/E81V/ L85R/K89N/A91T/ F92P/K93V/R94L/ N149S	96	1018 (0.08)	974 (0.02)	25434 (1.43)	405 (0.80)	24029 (1.25)
R29V/M43Q/E81R/ L85I/K89R/D90L/ A91E/F92N/K93Q/ R94G	97	1029 (0.08)	996 (0.02)	1575 (0.09)	342 (0.67)	11695 (0.61)
T41I/A91G	98	17890 (1.35)	50624 (1.01)	12562 (0.70)	433 (0.85)	26052 (1.36)
K89R/D90K/A91G/ F92Y/K93R/N122S/ - N177S	99	41687 (3.15)	49429 (0.99)	20140 (1.13)	773 (1.52)	6345 (0.33)
K89R/D90K/A91G/ F92Y/K93R	100	51663 (3.91)	72214 (1.44)	26405 (1.48)	1125 (2.21)	9356 (0.49)
K36G/K37Q/M38I/ F59L/E81V/L85R/ K89N/A91T/F92P/ K93V/R94L/E99G/	101	1298 (0.10)	1271 (0.03)	3126 (0.18)	507 (1.00)	3095 (0.16)

[0541]

표 7: PD-L1 에 대하여 선택된 CD80 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.						
CD80 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합			항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		CD28 MFI (모 비율)	CTLA-4 MFI (모 비율)	PD-L1 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
T130A/N149S						
AE88D/K89R/D90K/ A91G/F92Y/K93R	102	31535 (2.38)	50868 (1.02)	29077 (1.63)	944 (1.85)	5922 (0.31)
K36G/K37Q/M38I/ L40M	103	1170 (0.09)	1405 (0.03)	959 (0.05)	427 (0.84)	811 (0.04)
K36G	104	29766 (2.25)	58889 (1.18)	20143 (1.13)	699 (1.37)	30558 (1.59)
WTCD80	28	13224 (1.00)	50101 (1.00)	17846 (1.00)	509 (1.00)	19211 (1.00)

[0542]

표 8: CD28 또는 ICOS 에 대하여 선택된 ICOSL 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.

ICOSL 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합		항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		ICOSOD (모 비율)	CD28 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
N52S	109	1.33 (1.55)	162 (9.00)	1334 (1.93)	300 (0.44)
N52H	110	1.30 (1.51)	368 (20.44)	1268 (1.83)	39 (0.06)
N52D	111	1.59 (1.85)	130 (7.22)	1943 (2.80)	190 (0.28)
N52Y/N57Y/ F138L/L203P	112	1.02 (1.19)	398 (22.11)	510* (1.47*)	18 (0.03)
N52H/N57Y/ Q100P	113	1.57 (1.83)	447 (24.83)	2199 (3.18)	25 (0.04)
N52S/Y146C/ Y152C	114	1.26 (1.47)	39 (2.17)	1647 (2.38)	152 (0.22)
N52H/C198R	115	1.16 (1.35)	363 (20.17)	744* (2.15*)	ND (ND)
N52H/C140D/ T225A	116	ND (ND)	154 (8.56)	522* (1.51*)	ND (ND)
N52H/C198R/ T225A	117	1.41 (1.64)	344 (19.11)	778* (2.25*)	0 (0)
N52H/K92R	118	1.48 (1.72)	347 (19.28)	288* (0.83*)	89 (0.13)
N52H/S99G	119	0.09 (0.10)	29 (1.61)	184* (0.53*)	421 (0.61)
N52Y	120	0.08 (0.09)	18 (1.00)	184* (0.53*)	568 (0.83)
N57Y	121	1.40 (1.63)	101 (5.61)	580* (1.68*)	176 (0.26)
N57Y/Q100P	122	0.62 (0.72)	285 (15.83)	301* (0.87*)	177 (0.26)
N52S/S130G/ Y152C	123	0.16 (0.19)	24 (1.33)	266* (0.77*)	1617 (2.35)
N52S/Y152C	124	0.18 (0.21)	29 (1.61)	238* (0.69*)	363 (0.53)
N52S/C198R	125	1.80 (2.09)	82 (4.56)	1427 (2.06)	201 (0.29)
N52Y/N57Y/ Y152C	126	0.08 (0.09)	56 (3.11)	377* (1.09*)	439 (0.64)
N52Y/N57Y/H129P/C198R	127	ND (ND)	449 (24.94)	1192 (1.72)	ND (ND)
N52H/L161P/ C198R	128	0.18 (0.21)	343 (19.05)	643* (1.86*)	447 (0.65)
N52S/T113E	129	1.51	54	451*	345

[0543]

표 8: CD28 또는 ICOS 에 대하여 선택된 ICOSL 변이체들. 분자 서열, 결합 데이터, 및 공동자극 바이오활성 데이터.					
ICOSL 돌연변이(들)	SEQ ID NO (ECD)	결합		항-CD3 에 의한 공동고정	MLR
		ICOSOD (모 비율)	CD28 MFI (모 비율)	IFN-감마 pg/ml (모 비율)	IFN-감마 수준 pg/ml (모 비율)
		(1.76)	(3.00)	(1.30*)	(0.50)
S54A	130	1.62 (1.88)	48 (2.67)	386* (1.12*)	771 (1.12)
N52D/S54P	131	1.50 (1.74)	38 (2.11)	476* (1.38*)	227 (0.33)
N52K/L208P	132	1.91 (2.22)	291 (16.17)	1509 (2.18)	137 (0.20)
N52S/Y152H	133	0.85 (0.99)	68 (3.78)	2158 (3.12)	221 (0.32)
N52D/V151A	134	0.90 (1.05)	19 (1.06)	341* (0.99*)	450 (0.66)
N52H/I143T	135	1.83 (2.13)	350 (19.44)	2216 (3.20)	112 (0.16)
N52S/L80P	136	0.09 (0.10)	22 (1.22)	192* (0.55*)	340 (0.49)
F120S/Y152H/ N201S	137	0.63 (0.73)	16 (0.89)	351* (1.01*)	712 (1.04)
N52S/R75Q/L203P	138	1.71 (1.99)	12 (0.67)	1996 (2.88)	136 (0.20)
N52S/D158G	139	1.33 (1.55)	39 (2.17)	325* (0.94*)	277 (0.40)
N52D/Q133H	140	1.53 (1.78)	104 (5.78)	365* (1.05*)	178 (0.26)
WT ICOSL	32	0.86 (1.00)	18 (1.00)	692 / 346* (1.00)	687 (1.00)

*: 모 비율(Parental ratio)은 WT ICOSL에 대한 346 pg/ml IFN-감마를 이용하여 산출하였다.

실시예 7

리간드 결합 경쟁 분석법

[493] 실시예 6에서 나타난 바와 같이, 수 개의 CD80 변이체 분자들은 CD28 및 PD-L1 중 하나 또는 두 개 모두에 대해 증가된 결합을 나타냈다. 리간드 CD28 및 PD-L1에 대한 CD80의 결합 활성을 추가로 평가하기 위해, 이 실시예는 CD28 및 PD-L1 양자 모두에 결합하는 예시적인 CD80 변이체의 비-경쟁적 속성을 평가하기 위한 리간드 경쟁 분석법을 설명한다.

[494] CD28와 PD-L1에 동시에 결합하는 CD80의 능력을 평가하기 위해 플레이트-결합된 CD80 변이체 A91G ECD-Fc를 병합하여 ELISA 기반 결합 분석법을 수립하였다. Maxisorp 96 웰 ELISA 플레이트(Nunc, USA)를 PBS 중 100nM 인간 재조합 CD80 변이체 A91G ECD-Fc 용합 단백질로 밤새 도포하였다. 다음 날 미결합 단백질을 씻어내고, 실온에서 1 시간 동안 플레이트를 1% 소혈청 알부민(Millipore, USA)/PBS으로 블로킹시켰다. 이 블로킹 시약을 PBS/ 0.05% Tween을 이용하여 3회 세척하였는데, 여기에는 각 세척마다 플랫폼 진탕기 상에서 2분간 인큐베이션하는 것이 포함되었다.

[495] 경쟁 분석의 한쪽에서는, CD80을 CD28과 함께 인큐베이션한 다음 이어서 CD28-결합 CD80을 공지의 다른 CD80 리간드 카운터 구조들인 PD-L1 또는 CTLA-4 또는 음성 대조군 리간드 PD-L2의 존재 하에 경쟁적 결합에 대해 평가하였다. 구체적으로, 바이오티닐화된 재조합 인간 CD28 Fc 용합 단백질 (rCD28.Fc; R&D Systems)을 10 nM에서 시작하여 25 μ l 부피로 1:2 희석, 8 포인트 희석하여 웰 내로 적정하였다. 바이오티닐화된 rCD28.Fc를 첨가한 직후, 비표지 경쟁 바인더, 재조합 인간 PD-L1 모노머 his-태그된 단백질, 재조합 인간 CTLA-4 모노머 his-태그된 단백질, 또는 음성 대조군 인간 재조합 PD-L2 Fc 용합 단백질 (R&D Systems)을 최종 부피 50 μ l가 되도록 각각 2000/1000/500nM로 25 μ l 부피로 하여 웰에 첨가하였다. 전술한 바와 같은 3회의 세척 단계를 반복하기 전에 이들 단백질을 함께 인큐베이션하였다.

[496] 세척 후, 웰 당 2.5ng의 HRP-컨쥬게이션된 스트렙타비딘 (Jackson Immunoresearch, USA)을 1% BSA/PBS에 희석하고 결합된 바이오티닐화된 rCD28.Fc를 검출하기 위해 웰에 첨가하였다. 1 시간 인큐베이션한 후, 웰들을 전술한 바와 같이 다시 3회 세척하였다. 시그널을 제외하기 위해, 50 μ l의 TMB 기질(Pierce, USA)을 세척 후

웰에 첨가한 다음 7분간 인큐베이션하고 이어서 50ul 2M 황산 스톱 용액을 첨가하였다. Emax Plus microplate 리더 (Molecular Devices, USA) 상에서 광학 밀도를 구하였다. 광학 밀도값을 Prism (Graphpad, USA)에 그래프로 나타내었다.

[0552] [497] 결과를 도 1A에 나타내었다. 이 결과들은 rCD28.Fc의 적정과 함께 CD80 변이체 A91G ECD-Fc 융합 단백질에 대한 바이오티닐화된 rCD28.Fc의 결합 감소를 나타내었다. 비-경쟁적 대조군 단백질인, rPDL2의 존재 하에 rCD28.Fc 결합을 수행한 경우 CD80에 대한 CD28 결합은 감소하지 않았다 (색칠된 삼각형). 이와 대조적으로, CD28.Fc과 함께 인큐베이션된 경우, 경쟁적 대조군 단백질인 rCTLA-4는 예측된 바와 같이 CD80에 대한 감소된 CD28 결합을 결과시켰다 (x 선). 재조합 PD-L1을 CD28.Fc와 함께 인큐베이션 시킨 경우, CD80에 대한 CD28의 결합의 감소는 관찰되지 않았는데, 이는 CD80에 대한 PD-L1 및 CD28의 에피토프들이 비-경쟁적임을 입증하는 것이다. CD80에 대한 CD28 경쟁 분석에 사용된 재조합 PD-L1 단백질은 비-바이오티닐화된 rCD28.Fc의 존재 하에 바이오티닐화된 PD-L1을 인큐베이션함으로써 확인하였다 (사각형).

[0553] [498] CD80을 PD-L1과 함께 인큐베이션한 다음 PD-L1-결합된 CD80을, 다른 공지의 CD80 리간드 카운터 구조인 CD28 또는 CTLA-4 또는 음성 대조군 리간드 PD-L2 존재 하의 경쟁 결합에 대해 평가하는 역경쟁(reverse competition)도 계획하였다. 구체적으로, 이 분석법은 재조합 CD80 변이체를 함유하는 웰 내로 바이오티닐화된 재조합 인간 PD-L1-his 모노머 단백질을 적정함으로써 수행하였다. 이 리간드와의 결합이 더 약하기 때문에, 적정은 8포인트에 대해 25 μ L로, 유사하게 1:2 희석을 이용하여 5000 nM에서 시작하였다. 결합을 검출하는데 rPD-L1-his가 이용된 경우, 경쟁 리간드들인 인간 rCD28.Fc, 인간 rCTLA-4.Fc, 또는 인간 rPD-L2.Fc 대조군을, 총 부피 50 μ L에 대해 25 μ L 중 2.5nM 최종 농도로 하여 첨가하였다. 후속되는 세척, 검출 및 OD 측정은 전술한 바와 동일하였다.

[0554] [499] 결과를 도 1B에 제시하였다. 적정된 PD-L1-his 결합 단독은 CD80 변이체 A91G ECD-Fc 융합 분자에 결합된 PD-L1이 플레이트 상에 고정되었음을 확인하였다 (사각형). 비-경쟁 대조군 단백질 rPDL2의 존재 하에 PD-L1-his 결합이 수행된 경우, CD80에 대한 PD-L1 결합은 감소하지 않았다 (삼각형). 비록 CTLA-4가 CD28에 대해 경쟁적이라 해도 D28-경쟁적 대조군 단백질, rCTLA-4는, PD-L1-his와 함께 인큐베이션된 경우, CD80에 대한 PD-L1의 결합 감소를 일으키지 않았다 (x 선). 마지막으로, PD-L1-his가 CD28.Fc와 함께 인큐베이션된 경우, CD80에 대한 PD-L1 결합의 감소는 관찰되지 않았는데, 이는 CD80에 대한 CD28 및 PD-L1의 에피토프들이 비-경쟁적임을 입증하는 것이다.

[0555] [500] 그러므로, 이러한 결과들은 PD-L1 또는 음성 대조군 PD-L2는 아니라 해도 CTLA-4는 CD80에 대한 CD28의 결합에 대해 경쟁적임과 (도 1A), CD28, CTLA-4, 및 PD-L2가 CD80에 대한 PD-L1의 결합에 대해 경쟁적이지 않음을 (도 1B) 나타내는 것이다. 따라서, 이들 결과들은 CD28 및 PD-L1이 CD80의 비-경쟁적 바인더라는 것과 이 비-경쟁적 결합이 ELISA에서 검출대상으로 하는 리간드와 무관하게 독립적으로 입증될 수 있음을 입증하는 것이다.

[0556] 실시예 8

[0557] 상이한 친화성-변형된 도메인들을 함유하는 스택된 분자들의 생성 및 평가

[0558] [501] 하나 이상의 카운터 구조 리간드에 대해 친화성-변형된 전술한, 선택된 변이체 분자들을 이용하여 친화성-변형된 IgSF 도메인들을 두 개 이상 함유하는 "스택(stack)" 분자(즉, II형 면역조절 단백질을) 생성하였다. 스택 구조물들은 Gibson 어셈블리 키트 (New England Biolabs)를 이용함으로써 표준 Gibson 어셈블리에 의해 Fc에 대한 그의 융합을 가능케 하는 포맷으로 스택을 인코딩하는 유전자블록(geneblocks) (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA)으로서 수득되었다.

[0559] [502] 다음과 같이 디자인된 단백질을 인코딩하기 위해 모든 스택들의 인코딩 핵산 분자들을 생성하였다: 전술한 바와 같이 시그널 펩타이드, 이어서 목적하는 제1 변이체 IgV, 이어서 3개의 GGGGS(G4S) 모티프로 구성된 15개 아미노산 링커(SEQ ID NO:228), 이어서 목적하는 제2의 IgV, 이어서 2개의 GGGGS 링커 (SEQ ID NO: 229) 이어서 3개의 알라닌(AAA), 이어서 인간 IgG1 Fc. 각 스택에 있어서 IgV 도메인들의 정확한 폴딩 기회를 최대화하기 위해, 제1 IgV에 앞서, 이 IgV와 시그널 펩타이드(리딩 서열) 사이에 야생형 단백질에서 정상적으로 발생하는 모든 잔기들을 선행시켰다. 마찬가지로, 제1 IgV에 이어서 야생형 단백질에서 이것을 보통 다음 Ig 도메인(일반적으로 IgC 도메인)에 연결시키는 모든 잔기 또는 만일 제2 IgV 도메인이 부재할 경우, 이것을 막통과 도메인(트레일링 서열)과 연결시키는 잔기가 후행하였다. 두 개의 IgV 도메인들 모두가 동일한 모 단백질 (예컨대 다른 CD80 IgV와 함께 스택된 CD80 IgV)로부터 유래된 경우, 이들 양자 사이에 링커가 중복되지 않는 경우를 제

외하고, 동일한 디자인 원리가 제2의 IgV 도메인에도 적용되었다.

[0560]

[503] 표 9에는 예시적인 스택된 구조물들에 대한 디자인이 기재되어 있다. 표 9에 나타나 있는 예시적인 스택 분자들은 표시된 바와 같은 IgV 도메인들 및 부가적으로 전술한 바와 같은 리딩 서열 또는 트레일링 서열을 함유한다. 표에서, 다음의 성분들이 순서대로 제시된다: 시그널 펩타이드 (SP; SEQ ID NO:225), IgV 도메인 1 (IgV1), 트레일링 서열 1 (TS1), 링커 1 (LR1; SEQ ID NO:228), IgV 도메인 2(IgV2), 트레일링 서열 2 (TS2), 링커 2 (LR2; SEQ ID NO:230) 및 Fc 도메인 (C5S/N82G 아미노산 치환을 함유하는 SEQ ID NO:226). 몇 경우, 리딩 서열 1(LS1)은 시그널 펩타이드와 IgV1 사이에 존재하고 몇몇 경우 리딩 서열 2 (LS2)는 링커와 IgV2 사이에 존재한다

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
NKp30 WT	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	+
ICOSL WT										
NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 212	SEQ ID NO: 233	+	+
ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R										
NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G)	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	+
ICOSL N52D										
NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
ICOSL N52H/N57Y/Q100P										
ICOSL WT	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	+
Nkp30 WT										
ICOSL N52D	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	+
NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G										
ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	+
NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G										
도메인 1: NKp30 WT	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 WT										
도메인 1: NKp30 WT	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 2: CD86 WT										
도메인 1: NKp30 L30V/A60V/S64P/S86G	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+

[0561]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S										
도메인 1: Nkp30 L30V/A60V/S64P/ S86G 도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: Nkp30 L30V/A60V/S64P/ S86G 도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102 H	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 1: CD80 WT 도메인 2: Nkp30 WT	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	+
도메인 1: CD86 WT 도메인 2: Nkp30 WT	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 214	SEQ ID NO: 235	+	+
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S 도메인 2: Nkp30 L30V/A60V/S64P/ S86G	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	+
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S 도메인 2: Nkp30 L30V/A60V/S64P/ S86G	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	+
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102 H 도메인 2: Nkp30 L30V/A60V/S64P/ S86G	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 215	SEQ ID NO: 235	+	+

[0562]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
도메인 1: CD80 WT 도메인 2: ICOSL WT	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 WT 도메인 2: CD86 WT	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 1: CD80 WT 도메인 2: CD80 WT	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R 도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E88G/K89E/D90N/A91G/P109S	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E88G/K89E/D90N/A91G/P109S	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R 도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	SEQ ID	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+

[0563]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H						NO: 236				
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: ICOSL N52D	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R 도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: ICOSL WT 도메인 2: CD80 WT	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	+

[0564]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)

	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
도메인 1: CD86 WT	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 152	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 WT										
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T										
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T										
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102 H	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102 H	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T										

[0565]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)

	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
F59L/E77K/P109S/I118T										
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T										
도메인 1: ICOSL N52D	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: ICOSL N52D	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T										
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T										
도메인 1: CD80 V68M/L70P/L72P/	+	-	SEQ ID NO: 195	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+

[0566]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
K86E										
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: CD80 R29V/Y31F/K36G/ M38L/N43Q/E81R /V83I/L85I/K89R/ D90L/A91E/F92N/ K93Q/R94G	+	-	SEQ ID NO: 194	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 1: CD80 V68M/L70P/L72P/ K86E										
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T	+	-	SEQ ID NO: 195	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 R29V/Y31F/K36G/ M38L/N43Q/E81R /V83I/L85I/K89R/ D90L/A91E/F92N/ K93Q/R94G										
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T	+	-	SEQ ID NO: 194	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 2: CD80 V68M/L70P/L72P/ K86E										
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 195	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K /A91G/F92Y/K93R										
도메인 2: CD80 R29V/Y31F/K36G/ M38L/N43Q/E81R /V83I/L85I/K89R/ D90L/A91E/F92N/ K93Q/R94G	+	-	SEQ ID NO: 189	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 194	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T										
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/ I118T	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 195	SEQ ID NO: 231	+	+

[0567]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)

	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: CD80 V68M/L70P/L72P/K86E										
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/ F59L/E77K/P109S/I118T 도메인 2: CD80 R29V/Y31F/K36G/ M38L/N43Q/E81R/ V83I/ L85I/K89R/D90L/ A91E/F92N/K93Q/ R94G	+	-	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 194	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: CD86 WT 도메인 2: ICOSL WT	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D /L96F/L98F/Q100 R/G103E/ F120S	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D /L96F/L98F/Q100 R/G103E/ F120S	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S 도메인 2: ICOSL N52D	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80	+	-	SEQ ID	SEQ ID	+	-	SEQ ID	SEQ ID	+	+

[0568]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)

	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
I67T/L70Q/A91G/T120S 도메인 2: ICOSL N52D			NO: 175	NO: 231			NO: 199	NO: 233		
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E88G/K89E/D90N/A91G/P109S 도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S 도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H 도메인 2: ICOSL N52D	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H 도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	+
도메인 1: ICOSL WT 도메인 2: CD86 WT	+	-	SEQ ID NO: 196	SEQ ID NO: 233	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 220	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+

[0569]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
F120S										
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S										
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D /L96F/L98F/Q100 R/G103E/ F120S	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S										
도메인 1: ICOSL N52D										
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: ICOSL N52D										
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/ T120S	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 175	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100 P										
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G /Y87N/E88G/K89E /D90N/A91G/P109 S	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	-	SEQ ID NO: 192	SEQ ID NO: 231	+	+
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D /L96F/L98F/Q100 R/G103E/ F120S	+	-	SEQ ID NO: 213	SEQ ID NO: 233	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102 H										
도메인 1: ICOSL N52D										
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102	+	-	SEQ ID NO: 199	SEQ ID NO: 233	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+

[0570]

표 9: 예시적인 스택 구조물 성분들의 아미노산 서열 (SEQ ID NO)										
	SP	제 1 도메인			LR1	제 2 도메인			LR2	Fc
		LS1	IgV1	TS1		LS2	IgV2	TS2		
H										
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100 P										
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102 H	+	-	SEQ ID NO: 201	SEQ ID NO: 233	+	SEQ ID NO: 236	SEQ ID NO: 221	SEQ ID NO: 237	+	+

[0571]

[0572]

[504] 적어도 하나의 친화성-변형된 IgV 도메인을 함유하는 CD80, CD86, ICOSL 또는 Nkp30으로부터의 변이체 IgV 도메인들의 다양한 조합을 함유하는 변이체 IgV-스택된-Fc 융합분자들의 대량 발현 및 정제를 실시예 5에 설명된 바와 같이 수행하였다. 대응하는 카운터 구조에 대한 변이체 IgV-스택된-Fc 융합 분자들의 결합 및 항-CD3 공동고정 분석에 의한 기능적 활성을 실시예 6에 설명된 바와 같이 평가하였다. 예를 들어, 전술한 바와 같이 유사한 공동고정된 항-CD3 분석법으로, 스택된 IgSF Fc 융합 단백질들의 공동자극 바이오활성을 알아보았다. 이 경우, 4nM의 항-CD3 (OKT3, Biolegend, USA)을 4nM 내지 120nM의 인간 rB7-H6.Fc (R&D Systems, USA) 또는 인간 rPD-L1.Fc (R&D Systems, USA)과 함께 조직-배양 처리된 96 웰 플레이트(Corning, USA) 상에서 밤새 공동 고정시켰다. 다음 날 결합되지 않은 단백질을 PBS로 세척하고 100ul Ex-Vivo 15 배지 (Lonza, Switzerland) 내 100,000개의 정제된 범(pan) T 세포들을 각 웰에 첨가하였다. 이어서 스택된 IgSF 도메인들을 총 200ul 부피에 대해 100ul의 부피로 8nM 내지 40nM의 농도 범위로 첨가하였다. 배양 상등액 수확 전 3일 동안 세포들을 배양하

고 전술한 바와 같이 DuoSet ELISA 키트 (R&D Systems, USA)를 이용하여 인간 IFN-감마 수준을 측정하였다.

[0573]

[505] 결과를 표 10-14에 나타내었다. 구체적으로, 표 10은 Nkp30 IgV 도메인 및 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 변이체 IgV-스택된-Fc 융합 분자들에 대한 결합 및 기능적 활성 결과를 기재하고 있다. 표 11은 Nkp30 IgV 도메인 및 CD80 또는 CD86 IgV 도메인을 함유하는 변이체 IgV-스택된-Fv 융합 분자들에 대한 결합 및 기능적 활성 결과를 기재하고 있다. 표 12는 변이체 CD80 IgV 도메인 및 CD80, CD86 또는 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 변이체 IgV-스택된-Fc 융합 분자들에 대한 결합 및 기능적 활성 결과를 기재하고 있다. 표 13은 두 개의 변이체 CD80 IgV 도메인들을 함유하는 변이체 IgV-스택된-Fc 융합 분자들에 대한 결합 및 기능적 활성 결과를 기재하고 있다. 표 14는 변이체 CD80 또는 CD86 IgV 도메인 및 변이체 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 IgV-스택된 Fc 융합 분자들에 대한 결과를 기재한다.

[0574]

[506] 표 10-14 각각에서, 컬럼 1은 아미노 말단 (N 말단) 도메인으로부터 시작하여, C 말단 인간 IgG1 Fc 도메인들에 앞서 위치하는 중간의 WT 또는 친화성 변형된 도메인으로 된 스택된, 친화성 변형된 또는 야생형 (WT) 도메인들의 구조 조직 및 배향을 나타낸다. 컬럼 2는 각각의 "스택" 분자들에 함유된 각 IgV 도메인의 서열에 대한 SEQ ID NO 동정자(identifier)를 나타낸다. 컬럼 3은 컬럼 1로부터의 표시된 친화성 변형된 스택된 도메인들에 대해 선택된 결합 파트너를 나타낸다.

[0575]

[507] 다양한 카운터 구조 리간드들을 발현하도록 조작된 세포들에 대한 각 스택 분자의 결합에 대한 평균 형광 강도(MFI)값 및 동일한 세포-발현된 카운터 구조 리간드에 대한 아미노산 치환(들)을 함유하지 않는 비변형 IgV 도메인들을 함유하는 대응하는 스택 분자의 결합과 비교한 MFI의 비율(ratio)에 의해 측정되는 바와 같은 결합 활성 역시도 나타내었다. T 세포의 활성을 조절하는 변이체 스택 분자들의 기능적 활성 역시도 실시예 6에 설명된 바와 같이 항-CD3과 공동고정된 적절한 리간드 및 분자 중 표시된 변이체 스택 분자와 함께 생성된 배양 상등액(pg/ml)에서의 IFN-감마의 계산된 수준에 기초하여 나타내었다. 이들 표들은 또한 공동고정 분석에서 대응하는 비변형 스택 분자와 비교시 각 변이체 스택 분자에 의해 생산된 IFN-감마의 비율도 나타낸다.

[0576]

[508] 나타난 바와 같이, 표시된 결과들은 상응하는 비변형(예컨대 야생형) IgV 도메인을 함유하는 대응하는 스택 분자에 비해, 적어도 하나의 동족 카운터 구조 리간드에 대한 결합이 증가된 친화성-변형된 활성을 나타내는 적어도 하나의 변이체 IgSF 도메인들을 함유하는 스택 분자들을 생성하는 것이 가능하였음을 보여준다. 몇몇 경우, 분자 내 두 개의 변이체 IgSF 도메인들 중 어느 하나 또는 두 개 모두의 조합으로부터의 스택 분자는 두 개 이상의 동족 카운터 구조 리간드에 대해 증가된 결합을 나타내었다. 이러한 결과는 또한 스택된 분자들 중의 IgV 도메인들의 순서가 증가된 결합 활성 정도를 변경시킬 수 있다는 것도 보여주었다. 몇몇 경우, 기능성 T 세포활성은 또한 표적화된 공동고정 분석에서 평가시 변경되었다.

표 10: NKp30 IgV 도메인 및 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 스택된 변이체 IgV Fc 융합 단백질들						
도메인 구조 N 말단에서 C 말단: 도메인 1/도메인 2/Fc	SEQ ID NO (IgV)	다음에 대하여 선택된 카운터 구조	결합 활성			항-CD3 공동고정 분석 pg/ml IFN-감마 (WT 모 IFN-감마 비율)
			B7H6 MFI (WT 모 MFI 비율)	ICOS MFI (WT 모 MFI 비율)	CD28 MFI (WT 모 MFI 비율)	
도메인 1: NKp30 WT 도메인 2: ICOSL WT	214 196	-	64538 (1.00)	26235 (1.00)	6337 (1.00)	235 (1.00)
도메인 1: NKp30 (L30V A60V S64P S86G) 도메인 2: ICOSL (N52S N57Y H94D L96F L98F Q100R)	215 212	B7-H6 ICOS- CD28	59684 (0.92)	12762 (0.49)	9775 (1.54)	214 (0.91)
도메인 1: NKp30 (L30V A60V S64P S86G) 도메인 2: ICOSL (N52D)	215 199	B7-H6 ICOS- CD28	65470 (1.01)	30272 (1.15)	9505 (1.50)	219 (0.93)
도메인 1: NKp30 (L30V A60V S64P S86G)/ 도메인 2: ICOSL (N52H N57Y Q100P)	215 201	B7-H6 ICOS- CD28	38153 (0.59)	27903 (1.06)	11300 (1.78)	189 (0.80)
도메인 1: ICOSL WT 도메인 2: Nkp30 WT	196 214	-	117853 (1.0)	70320 (1.0)	7916 (1.0)	231 (1.0)
도메인 1: ICOSL (N52D) 도메인 2: NKp30 (L30V A60V S64P S86G)	199 215	ICOS- CD28 B7-H6	100396 (0.85)	83912 (1.19)	20778 (2.62)	228 (0.98)
도메인 1: ICOSL (N52H N57Y Q100P) 도메인 2: NKp30 (L30V A60V S64P S86G)	201 215	ICOS- CD28 B7-H6	82792 (0.70)	68874 (0.98)	72269 (9.12)	561 (2.43)

[0577]

표 11: Nkp30 IgV 도메인 및 CD80 또는 CD86 IgV 도메인을 함유하는 스택된 변이체 IgV Fc 융합 단백질들					
도메인 구조 N 말단에서 C 말단: 도메인 1/도메인 2/Fc	SEQ ID NO (IgV)	다음에 대하여 선택된 카운터 구조	결합 활성		항-CD3 공동고정 분석 pg/ml IFN-감마 (WT 모 IFN-감마 비율)
			B7H6 MFI (WT 모 MFI 비율)	CD28 MFI (WT 모 MFI 비율)	
도메인 1: Nkp30 WT	214	-	88823 (1.00)	7022 (1.00)	68 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152				
도메인 1: Nkp30 WT	214	-	14052 (1.00)	1690 (1.00)	92 (1.00)
도메인 2: CD86 WT	220				
도메인 1: Nkp30 (L30V A60V S64P S86G)	215	B7-H6			
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	53279 (0.60)	9027 (1.29)	94 (1.38)
도메인 1: Nkp30 (L30V A60V S64P S86G)	215	B7-H6			
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28	41370 (0.47)	11240 (1.60)	60 (0.88)
도메인 1: Nkp30 (L30V A60V S64P S86G)/	215	B7-H6			
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28	68480 (4.87)	9115 (5.39)	110 (1.19)
도메인 1: CD80 WT	152	-	110461 (1.00)	13654 (1.00)	288 (1.00)
도메인 2: Nkp30 WT	214				
도메인 1: CD86 WT	220	CD28	128899 (1.00)	26467 (1.00)	213 (1.00)
도메인 2: Nkp30 WT	214	B7-H6			
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28			
도메인 2: Nkp30 (L30V A60V S64P S86G)	215	B7-H6	55727 (0.50)	4342 (0.32)	100 (0.35)
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28			
도메인 2: Nkp30 (L30V A60V S64P S86G)	215	B7-H6	40412 (0.37)	7094 (0.52)	84 (0.29)
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28			
	215	B7-H6	220836 (1.71)	11590 (0.44)	113 (0.53)

[0578]

도메인 2: NKp30 (L30V A60V S64P S86G)					
------------------------------------	--	--	--	--	--

표 12: CD80 IgV 도메인 및 CD80, CD86, 또는 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 스택된 변이체 IgV Fc 융합 단백질들						
도메인 구조 N 말단에서 C 말단: 도메인 1/도메인 2/Fc	SEQ ID NO (IgV)	다음에 대하여 선택된 카운터 구조	결합 활성			항-CD3 공동고정 분석 pg/ml IFN-감마 (WT 모 IFN-감마 비율)
			CD28 MFI (WT 모 MFI 비율)	PD-L1 MFI (WT 모 MFI 비율)	ICOS MFI (WT 모 MFI 비율)	
도메인 1: CD80 WT	152		1230 (1.00)	2657 (1.00)	11122 (1.00)	69 (1.00)
도메인 2: ICOSL WT	196					
도메인 1: CD80 WT	152		60278 (1.00)	2085 (1.00)		59 (1.00)
도메인 2: CD86 WT	220					
도메인 1: CD80 WT	152		1634 (1.00)	6297 (1.00)		98 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152					
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1				
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	4308 (2.64)	4234 (0.67)		214 (2.18)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1				
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	7613 (4.66)	2030 (0.32)		137 (1.40)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1				
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28	3851 (2.36)	3657 (0.58)		81 (0.83)
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1				
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28	4117 (0.07)	2914 (1.40)		96 (1.63)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1				
도메인 2: CD86	221	CD28	2868 (0.05)	3611 (1.73)		94 (1.60)

[0579]

Q35H/H90L/Q102H						
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1				
도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28	3383 (2.75)	4515 (1.70)	5158 (0.46)	90 (1.30)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1				
도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28	2230 (1.81)	2148 (0.81)	3860 (0.35)	112 (1.62)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1 ICOS/CD 28				
도메인 2: ICOSL N52D	199		5665 (4.61)	6446 (2.43)	15730 (1.41)	126 (1.83)
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1				
도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28	6260 (5.09)	4543 (1.71)	11995 (1.08)	269 (3.90)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1				
도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28	3359 (2.73)	3874 (1.46)	8541 (0.77)	97 (1.41)
도메인 1: ICOSL WT	196		3000 (1.00)	2966 (1.00)	14366 (1.00)	101 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152					
도메인 1: CD86 WT	220		4946 (1.00)	1517 (1.00)		125 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152					
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28				
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	2832 (1.73)	3672 (0.58)		114 (1.16)
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28				
도메인 2: CD80	193	PD-L1	4542 (2.78)	2878 (0.45)		142 (1.45)

[0580]

A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T						
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28				
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	938 (0.57)	995 (0.16)		102 (1.04)
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28				
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	4153 (2.54)	2827 (0.45)		108 (1.10)
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28				
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	14608 (2.95)	2535 (1.67)		257 (2.06)
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28				
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	2088 (0.42)	2110 (1.39)		101 (0.81)
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28				
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	3634 (1.21)	4893 (1.65)	6403 (0.45)	123 (1.22)
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28				
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	1095 (0.37)	5929 (2.0)	7923 (0.55)	127 (1.26)
도메인 1: ICOSL N52D	199	ICOSL/C D28				
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	2023 (0.67)	5093 (1.72)	16987 (1.18)	125 (1.24)
도메인 1: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28				
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	3441 (1.15)	3414 (1.15)	20889 (1.45)	165 (1.63)
도메인 1: ICOSL	201	ICOS/CD	7835	6634	20779	95

[0581]

N52H/N57Y/Q100P 도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	28 PD-L1	(2.61)	(2.24)	(1.45)	(0.94)
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28				
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	8472 (2.82)	3789 (1.28)	13974 (0.97)	106 (1.05)

표 13: 두 개의 CD80 IgV 도메인들을 함유하는 스택된 변이체 IgV Fc 융합 단백질들

도메인 구조 N 말단에서 C 말단: 도메인 1/도메인 2/Fc	SEQ ID NO (IgV)	다음에 대하여 선택된 카운터 구조	결합 활성		기능 활성 MLR IFN-감마 pg/ml
			PD-L1 MFI (WT 모 MFI 비율)	CTLA-4 MFI (WT 모 MFI 비율)	
도메인 1: CD80 WT	152		6297 (1.00)	4698 (1.00)	35166 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152				
도메인 1: CD80 V68M/L70P/L72P/K86E	195	CTLA-4			
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	2464 (0.39)	4955 (1.05)	5705 (0.16)
도메인 1: CD80 R29V/Y31F/K36G/M38L/N 43Q/E81R/V83I/L85I/K89R/ D90L/A91E/F92N/K93Q/R9 4G	194	CTLA-4			
도메인 2: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F9 2Y/K93R	189	PD-L1	1928 (0.31)	1992 (0.42)	1560 (0.04)
도메인 1: CD80 V68M/L70P/L72P/K86E	195	CTLA-4			
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	1215 (0.19)	1382 (0.29)	2171 (0.06)
도메인 1: CD80 R29V/Y31F/K36G/M38L/N 43Q/E81R/V83I/L85I/K89R/ D90L/A91E/F92N/K93Q/R9 4G	194	CTLA-4			
도메인 2: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E7 7K/P109S/I118T	193	PD-L1	1592 (0.25)	1962 (0.42)	1512 (0.04)
도메인 1: CD80	189	PD-L1	1747	2057	9739

[0582]

E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R			(0.28)	(0.44)	(0.28)
도메인 2: CD80 V68M/L70P/L72P/K86E	195	CTLA-4			
도메인 1: CD80 E88D/K89R/D90K/A91G/F92Y/K93R	189	PD-L1			
도메인 2: CD80 R29V/Y31F/K36G/M38L/N43Q/E81R/V83I/L85I/K89R/D90L/A91E/F92N/K93Q/R94G	194	CTLA-4	1752 (0.28)	1772 (0.38)	5412 (0.15)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T	193	PD-L1			
도메인 2: CD80 V68M/L70P/L72P/K86E	195	CTLA-4	1636 (0.26)	1887 (0.40)	7608 (0.22)
도메인 1: CD80 A12T/H18L/N43V/F59L/E77K/P109S/I118T	193	PD-L1			
도메인 2: CD80 R29V/Y31F/K36G/M38L/N43Q/E81R/V83I/L85I/K89R/D90L/A91E/F92N/K93Q/R94G	194	CTLA-4	2037 (0.32)	4822 (1.03)	11158 (0.32)

표 14: CD80 또는 CD86 IgV 도메인 및 ICOSL IgV 도메인을 함유하는 스택된 변이체 IgV Fc 융합 단백질들					
도메인 구조 N 말단에서 C 말단: 도메인 1/도메인 2/Fc	SEQ ID NO (IgV)	다음에 대하여 선택된 카운터 구조	결합 활성		기능 활성 MLR IFN-감마 pg/ml
			PD-L1 MFI (WT 모 MFI 비율)	CTLA-4 MFI (WT 모 MFI 비율)	
도메인 1: CD80 WT	152		1230 (1.00)	11122 (1.00)	1756 (1.00)
도메인 2: ICOSL WT	196				
도메인 1: CD86 WT	220		29343 (1.00)	55193 (1.00)	6305 (1.00)
도메인 2: ICOSL WT	196				
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E88G/K89E/D90N/A91G/P109S	192	CD28			
도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L98F/Q100R/G103E/F120S	213	ICOS/CD28	2280 (1.85)	3181 (0.29)	2281 (1.30)
도메인 1: CD80	175	CD28	2309 (1.88)	26982 (2.43)	1561 (0.89)

[0583]

I67T/L70Q/A91G/T120S 도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	4285 (3.48)	22744 (2.04)	1612 (0.92)
도메인 2: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28	3024 (2.46)	16916 (1.52)	3857 (2.20)
도메인 2: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	6503 (5.29)	7240 (0.65)	6886 (3.92)
도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28	3110 (2.53)	4848 (0.44)	3393 (1.93)
도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28			
도메인 2: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28	11662 (0.40)	21165 (0.38)	880 (0.14)
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28	24230 (0.83)	73287 (1.33)	1110 (0.18)
도메인 2: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 1: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28 ICOS/CD 28	1962 (0.07)	1630 (0.03)	587 (0.09)
도메인 2: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201				
도메인 1: ICOSL WT	196		3000 (1.00)	14366 (1.00)	4113 (1.00)
도메인 2: CD80 WT	152				
도메인 1: ICOSL WT	196		18005 (1.00)	53602 (1.00)	18393 (1.00)
도메인 2: CD86 WT	220				
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9	213	ICOSL/C D28	10426 (3.48)	51286 (3.57)	18680 (4.54)

[0584]

8F/Q100R/G103E/ F120S					
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28			
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28	17751 (5.92)	29790 (2.07)	10637 (2.59)
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28			
도메인 1: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	2788 (0.93)	25870 (1.80)	6205 (1.51)
도메인 1: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 2: CD80 I67T/L70Q/A91G/T120S	175	CD28	2522 (0.84)	13569 (0.94)	5447 (1.32)
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28			
도메인 2: CD80 R29H/Y31H/T41G/Y87N/E8 8G/K89E/D90N/A91G/P109 S	192	CD28	9701 (3.23)	9187 (0.64)	5690 (1.38)
도메인 1: ICOSL N52S/N57Y/H94D/L96F/L9 8F/Q100R/G103E/ F120S	213	ICOS/CD 28	27050 (1.50)	21257 (0.40)	8131 (0.44)
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28			
도메인 1: ICOSL N52D	199	ICOS/CD 28			
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28	34803 (1.93)	80210 (1.50)	6747 (0.37)
도메인 1: ICOSL N52H/N57Y/Q100P	201	ICOS/CD 28			
도메인 2: CD86 Q35H/H90L/Q102H	221	CD28	5948 (0.33)	4268 (0.08)	26219 (1.43)

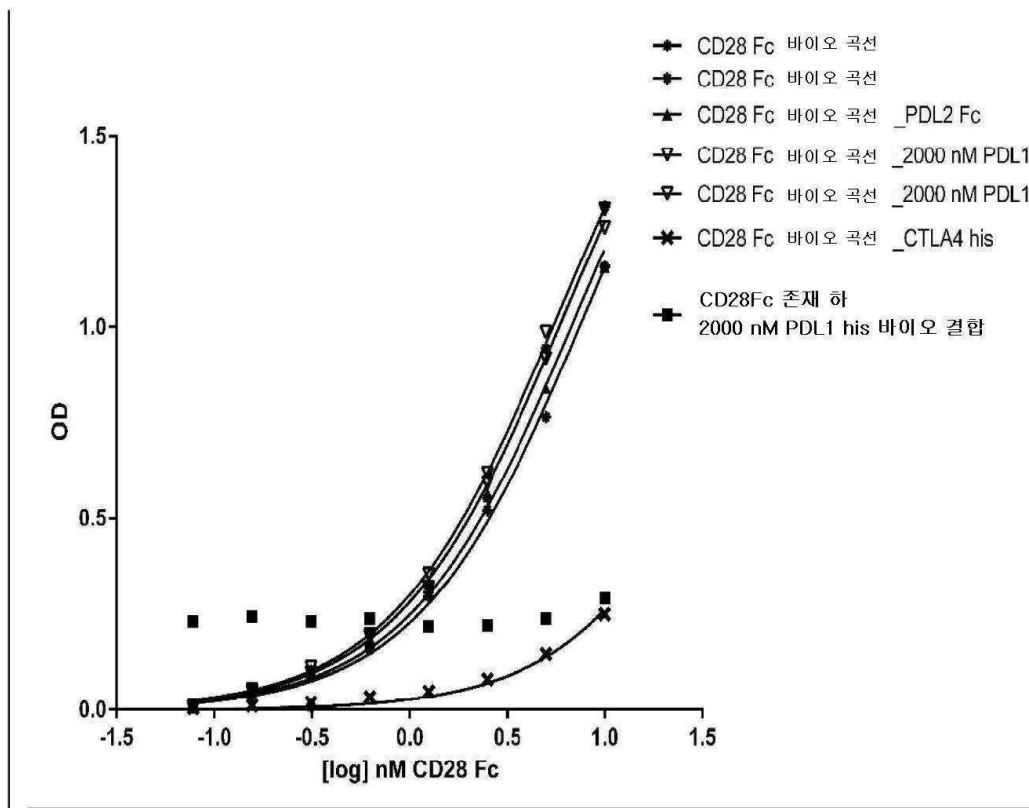
[0585]

[0586]

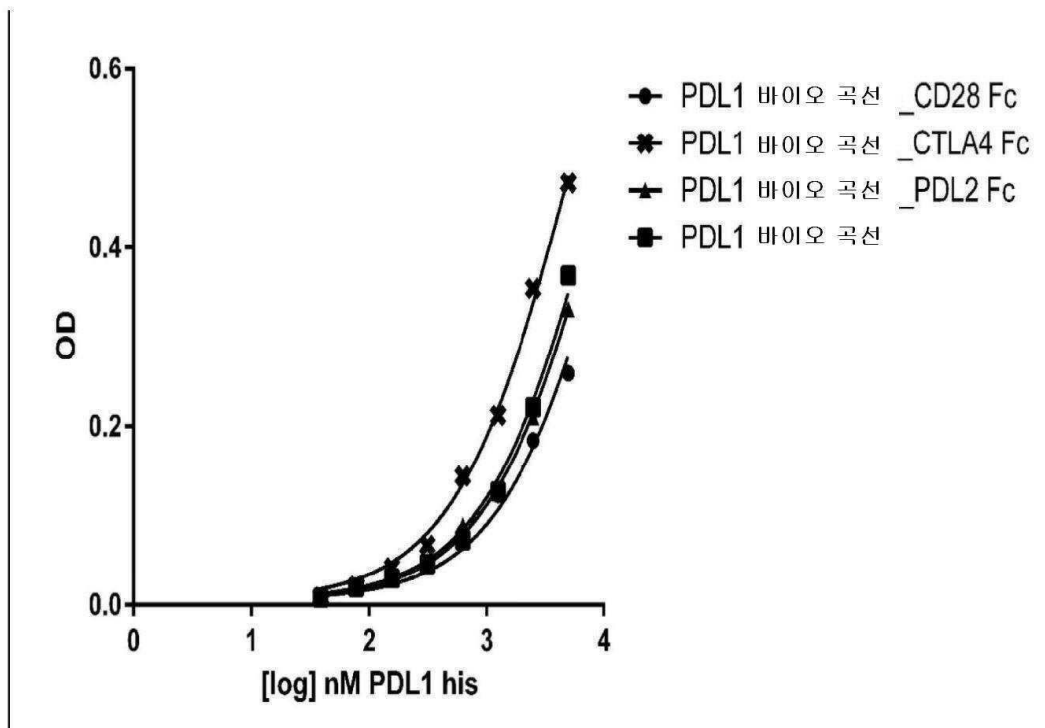
[509] 비록 본 발명의 바람직한 구체예들을 제시하고 설명하였지만, 통상의 기술자에게는 이러한 구체예들이 예시적 목적으로만 제공되었음이 이해될 것이다. 통상의 기술자라면 본 발명으로부터 일탈함이 없이 수많은 변형, 변화 및 치환을 가할 수 있을 것이다. 따라서 본 발명을 실시하는데 있어 본 명세서에 설명된 구체예들에 대한 다양한 변형이 이용될 수 있다. 본 발명의 범위는 청구범위에 의해 규정되는 것으로 의도되며 이러한 청구범위 내의 방법 및 구조 그리고 그의 균등물 역시 본 발명에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

도면1a



도면1b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Alpine Immune Sciences, Inc.

SWANSON, Ryan

KORNACKER, Michael

<120> IMMUNOMODULATORY PROTEINS WITH TUNABLE AFFINITIES

<130> 761612000140

<140> Not Yet Assigned

<141> Concurrently Herewith

<150> 62/149,437

<151> 2015-04-17

<150> 62/218,534

<151> 2015-09-14

<160> 240

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD80(B7-1)

<400> 1

Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr

1 5 10 15
Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys

20 25 30
Ser Gly Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu

35 40 45
Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile

50 55 60
Tyr Trp Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp

65 70 75 80
Met Asn Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr

85 90 95

Asn Asn Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly
100 105 110
Thr Tyr Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg
115 120 125
Glu His Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr
130 135 140
Pro Ser Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile
145 150 155 160
Ile Cys Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu
165 170 175
Glu Asn Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp
180 185 190
Pro Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met
195 200 205
Thr Thr Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg
210 215 220
Val Asn Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro
225 230 235 240
Asp Asn Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly
245 250 255
Ile Phe Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg
260 265 270
Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
275 280 285
<210> 2
<211> 329
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> CD86(B7-2)
<400> 2
Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met
1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe
20 25 30

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln
35 40 45

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val
50 55 60

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser
65 70 75 80

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg
85 90 95

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile
100 105 110

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser
115 120 125

Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile
130 135 140

Ser Asn Ile Thr Glu Asn Val Tyr Ile Asn Leu Thr Cys Ser Ser Ile
145 150 155 160

His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys
165 170 175

Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn
180 185 190

Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro
195 200 205

Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys
210 215 220

Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln
225 230 235 240

Pro Pro Pro Asp His Ile Pro Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val
245 250 255

Ile Ile Cys Val Met Val Phe Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys

260 265 270
Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu
275 280 285

Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro
290 295 300
Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser
305 310 315 320
Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe
325

<210> 3

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD274 (PD-L1, B7-H1)

<400> 3

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130 135 140
 Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
 145 150 155 160
 Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
 165 170 175
 Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
 180 185 190
 Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
 195 200 205

 Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
 210 215 220
 Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
 225 230 235 240
 Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
 245 250 255
 Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
 260 265 270

 Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285
 Glu Thr
 290
 <210> 4
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> PDCD1LG2(PD-L2, CD273)
 <400> 4
 Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
 1 5 10 15
 Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
 20 25 30

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

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

 Pro Ala Asn Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val
 165 170 175
 Thr Ser Val Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys
 180 185 190
 Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp
 195 200 205
 Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His
 210 215 220

 Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val
 225 230 235 240
 Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp
 245 250 255
 Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala
 260 265 270
 Ile

<210> 5

<211> 302

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2)

<400> 5

Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu

1 5 10 15

Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp

20 25 30

Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn

35 40 45

Asp Val Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Asn Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe

85 90 95

Ser Leu Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His

100 105 110

Cys Leu Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val

115 120 125

Glu Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser

130 135 140

Ala Pro His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser

145 150 155 160

Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp

165 170 175

Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn

180 185 190

Met Arg Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr

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

Trp Ser Ile Leu Ala Val Leu Cys Leu Leu Val Val Val Ala Val Ala
260 265 270
Ile Gly Trp Val Cys Arg Asp Arg Cys Leu Gln His Ser Tyr Ala Gly
275 280 285
Ala Trp Ala Val Ser Pro Glu Thr Glu Leu Thr Gly His Val
290 295 300

<210> 6

<211> 534

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD276(B7-H3)

<400> 6

Met Leu Arg Arg Arg Gly Ser Pro Gly Met Gly Val His Val Gly Ala

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

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

100	105	110	
Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp			
115	120	125	
Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys			
130	135	140	
Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr			
145	150	155	160
Val Thr Ile Thr Cys Ser Ser Tyr Gln Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val			
165	170	175	
Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr			
180	185	190	
Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Ile Leu			
195	200	205	
Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn			
210	215	220	
Pro Val Leu Gln Gln Asp Ala His Ser Ser Val Thr Ile Thr Pro Gln			
225	230	235	240
Arg Ser Pro Thr Gly Ala Val Glu Val Gln Val Pro Glu Asp Pro Val			
245	250	255	
Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys Ser Phe Ser Pro			
260	265	270	
Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr			
275	280	285	
Asp Thr Lys Gln Leu Val His Ser Phe Thr Glu Gly Arg Asp Gln Gly			
290	295	300	
Ser Ala Tyr Ala Asn Arg Thr Ala Leu Phe Pro Asp Leu Leu Ala Gln			
305	310	315	320
Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly			
325	330	335	
Ser Phe Thr Cys Phe Val Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val			
340	345	350	

Ser Leu Gln Val Ala Ala Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu
355 360 365
Pro Asn Lys Asp Leu Arg Pro Gly Asp Thr Val Thr Ile Thr Cys Ser
370 375 380
Ser Tyr Arg Gly Tyr Pro Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln
385 390 395 400
Gly Val Pro Leu Thr Gly Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu
405 410 415
Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val Val Leu Gly Ala
420 425 430
Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val Leu Gln Gln Asp
435 440 445
Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met Thr Phe Pro Pro
450 455 460
Glu Ala Leu Trp Val Thr Val Gly Leu Ser Val Cys Leu Ile Ala Leu
465 470 475 480
Leu Val Ala Leu Ala Phe Val Cys Trp Arg Lys Ile Lys Gln Ser Cys
485 490 495
Glu Glu Glu Asn Ala Gly Ala Glu Asp Gln Asp Gly Glu Gly Glu Gly
500 505 510
Ser Lys Thr Ala Leu Gln Pro Leu Lys His Ser Asp Ser Lys Glu Asp
515 520 525
Asp Gly Gln Glu Ile Ala
530
<210> 7
<211> 282
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> VTCN1(B7-H4)
<400> 7
Met Ala Ser Leu Gly Gln Ile Leu Phe Trp Ser Ile Ile Ser Ile Ile
1 5 10 15

Ile Ile Leu Ala Gly Ala Ile Ala Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser
 20 25 30
 Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser Ala Gly Asn Ile
 35 40 45
 Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu
 50 55 60
 Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val
 65 70 75 80
 His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met
 85 90 95
 Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn
 100 105 110
 Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr
 115 120 125
 Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu
 130 135 140
 Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn
 145 150 155 160
 Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln
 165 170 175
 Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser
 180 185 190
 Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met
 195 200 205
 Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser
 210 215 220
 Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly Asp Ile Lys Val
 225 230 235 240
 Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser
 245 250 255
 Lys Ala Ser Leu Cys Val Ser Ser Phe Phe Ala Ile Ser Trp Ala Leu

260 265 270
 Leu Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Met Leu Lys
 275 280
 <210> 8
 <211> 220
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD28
 <400> 8
 Met Leu Arg Leu Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val

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

 65 70 75 80
 Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr
 85 90 95
 Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys
 100 105 110
 Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser
 115 120 125
 Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro

 130 135 140
 Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly
 145 150 155 160
 Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile
 165 170 175
 Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

180 185 190
Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

195 200 205
Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

210 215 220

<210> 9

<211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CTLA4

<400> 9

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala

1 5 10 15

Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro

20 25 30

Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala

35 40 45

Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly

50 55 60

Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln

65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr

85 90 95

Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val

100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile

115 120 125

Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly

130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser

145 150 155 160

Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe
165 170 175
Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys
180 185 190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
195 200 205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220

<210> 10

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PDCD1(PD-1)

<400> 10

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln
1 5 10 15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp
20 25 30
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp
35 40 45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val
50 55 60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala
65 70 75 80
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg
85 90 95
Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg
100 105 110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu
115 120 125
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val
130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro
145 150 155 160
Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly
165 170 175
Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys
180 185 190
Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro
195 200 205
Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly
210 215 220
Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro
225 230 235 240
Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly
245 250 255
Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg
260 265 270
Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu
275 280 285
<210> 11
<211> 199
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> ICOS
<400> 11
Met Lys Ser Gly Leu Trp Tyr Phe Phe Leu Phe Cys Leu Arg Ile Lys
1 5 10 15
Val Leu Thr Gly Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile
20 25 30
Phe His Asn Gly Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val
35 40 45
Gln Gln Phe Lys Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp
50 55 60

Leu Thr Lys Thr Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu
65 70 75 80

Lys Phe Cys His Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu
85 90 95

Tyr Asn Leu Asp His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser
100 105 110

Ile Phe Asp Pro Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu
115 120 125

His Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys Phe Trp Leu Pro
130 135 140

Ile Gly Cys Ala Ala Phe Val Val Val Cys Ile Leu Gly Cys Ile Leu
145 150 155 160

Ile Cys Trp Leu Thr Lys Lys Lys Tyr Ser Ser Ser Val His Asp Pro
165 170 175

Asn Gly Glu Tyr Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser
180 185 190

Arg Leu Thr Asp Val Thr Leu
195

<210> 12

<211> 289

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> BTLA(CD272)

<400> 12

Met Lys Thr Leu Pro Ala Met Leu Gly Thr Gly Lys Leu Phe Trp Val
1 5 10 15

Phe Phe Leu Ile Pro Tyr Leu Asp Ile Trp Asn Ile His Gly Lys Glu
20 25 30

Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His Ser Ile
35 40 45

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

50					55					60									
Asn	Arg	Pro	His	Val	Thr	Trp	Cys	Lys	Leu	Asn	Gly	Thr	Thr	Cys	Val				
65					70					75					80				
Lys	Leu	Glu	Asp	Arg	Gln	Thr	Ser	Trp	Lys	Glu	Glu	Lys	Asn	Ile	Ser				
85					90					95									
Phe	Phe	Ile	Leu	His	Phe	Glu	Pro	Val	Leu	Pro	Asn	Asp	Asn	Gly	Ser				
100					105					110									
Tyr	Arg	Cys	Ser	Ala	Asn	Phe	Gln	Ser	Asn	Leu	Ile	Glu	Ser	His	Ser				
115					120					125									
Thr	Thr	Leu	Tyr	Val	Thr	Asp	Val	Lys	Ser	Ala	Ser	Glu	Arg	Pro	Ser				
130					135					140									
Lys	Asp	Glu	Met	Ala	Ser	Arg	Pro	Trp	Leu	Leu	Tyr	Arg	Leu	Leu	Pro				
145					150					155					160				
Leu	Gly	Gly	Leu	Pro	Leu	Leu	Ile	Thr	Thr	Cys	Phe	Cys	Leu	Phe	Cys				
165					170					175									
Cys	Leu	Arg	Arg	His	Gln	Gly	Lys	Gln	Asn	Glu	Leu	Ser	Asp	Thr	Ala				
180					185					190									
Gly	Arg	Glu	Ile	Asn	Leu	Val	Asp	Ala	His	Leu	Lys	Ser	Glu	Gln	Thr				
195					200					205									
Glu	Ala	Ser	Thr	Arg	Gln	Asn	Ser	Gln	Val	Leu	Leu	Ser	Glu	Thr	Gly				
210					215					220									
Ile	Tyr	Asp	Asn	Asp	Pro	Asp	Leu	Cys	Phe	Arg	Met	Gln	Glu	Gly	Ser				
225					230					235					240				
Glu	Val	Tyr	Ser	Asn	Pro	Cys	Leu	Glu	Glu	Asn	Lys	Pro	Gly	Ile	Val				
245					250					255									
Tyr	Ala	Ser	Leu	Asn	His	Ser	Val	Ile	Gly	Pro	Asn	Ser	Arg	Leu	Ala				
260					265					270									
Arg	Asn	Val	Lys	Glu	Ala	Pro	Thr	Glu	Tyr	Ala	Ser	Ile	Cys	Val	Arg				
275					280					285									
Ser																			

<210> 13

<211> 458

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD4

<400> 13

Met Asn Arg Gly Val Pro Phe Arg His Leu Leu Leu Val Leu Gln Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Lys Gly Asp Thr Val Glu Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gln Lys Lys Ser

35 40 45

Ile Gln Phe His Trp Lys Asn Ser Asn Gln Ile Lys Ile Leu Gly Asn

50 55 60

Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala

65 70 75 80

Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile

85 90 95

Lys Asn Leu Lys Ile Glu Asp Ser Asp Thr Tyr Ile Cys Glu Val Glu

100 105 110

Asp Gln Lys Glu Glu Val Gln Leu Leu Val Phe Gly Leu Thr Ala Asn

115 120 125

Ser Asp Thr His Leu Leu Gln Gly Gln Ser Leu Thr Leu Thr Leu Glu

130 135 140

Ser Pro Pro Gly Ser Ser Pro Ser Val Gln Cys Arg Ser Pro Arg Gly

145 150 155 160

Lys Asn Ile Gln Gly Gly Lys Thr Leu Ser Val Ser Gln Leu Glu Leu

165 170 175

Gln Asp Ser Gly Thr Trp Thr Cys Thr Val Leu Gln Asn Gln Lys Lys

180 185 190

Val Glu Phe Lys Ile Asp Ile Val Val Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser

195 200 205

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

210 215 220

Leu Ala Phe Thr Val Glu Lys Leu Thr Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp

225 230 235 240

Gln Ala Glu Arg Ala Ser Ser Ser Lys Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu

245 250 255

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

260 265 270

Gln Met Gly Lys Lys Leu Pro Leu His Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu

275 280 285

Pro Gln Tyr Ala Gly Ser Gly Asn Leu Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys

290 295 300

Thr Gly Lys Leu His Gln Glu Val Asn Leu Val Val Met Arg Ala Thr

305 310 315 320

Gln Leu Gln Lys Asn Leu Thr Cys Glu Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro

325 330 335

Lys Leu Met Leu Ser Leu Lys Leu Glu Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser

340 345 350

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

355 360 365

Gln Cys Leu Leu Ser Asp Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile

405 410 415

Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met

420 425 430

Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro

435 440 445

His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile

450 455

<210> 14

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD8A(CD8-alpha)

<400> 14

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Asn Leu Gly Glu Thr Val Glu Leu Lys Cys Gln Val Leu Leu Ser

35 40 45

Asn Pro Thr Ser Gly Cys Ser Trp Leu Phe Gln Pro Arg Gly Ala Ala

50 55 60

Ala Ser Pro Thr Phe Leu Leu Tyr Leu Ser Gln Asn Lys Pro Lys Ala

65 70 75 80

Ala Glu Gly Leu Asp Thr Gln Arg Phe Ser Gly Lys Arg Leu Gly Asp

85 90 95

Thr Phe Val Leu Thr Leu Ser Asp Phe Arg Arg Glu Asn Glu Gly Tyr

100 105 110

Tyr Phe Cys Ser Ala Leu Ser Asn Ser Ile Met Tyr Phe Ser His Phe

115 120 125

Val Pro Val Phe Leu Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg

130 135 140

Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg

145 150 155 160

Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly

165 170 175

Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr

180 185 190

Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys Asn His
195 200 205

Arg Asn Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val Val Lys Ser
210 215 220

Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
225 230 235

<210> 15
<211> 210
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> CD8B(CD8-beta)
<400> 15

Met Arg Pro Arg Leu Trp Leu Leu Leu Ala Ala Gln Leu Thr Val Leu

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

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

130 135 140
Thr Lys Lys Ser Thr Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro
145 150 155 160

Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Cys Ser Pro Ile Thr Leu Gly Leu Leu
165 170 175

Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Ile His
180 185 190

Leu Cys Cys Arg Arg Arg Ala Arg Leu Arg Phe Met Lys Gln Phe
195 200 205

Tyr Lys
210

<210> 16

<211> 525

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> LAG3

<400> 16

Met Trp Glu Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp
1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val
20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile
35 40 45

Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly Val Thr Trp Gln
50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu
65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro
85 90 95

Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly
100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln
115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala
130 135 140

Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys
 145 150 155 160
 Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro
 165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser
 180 185 190
 Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln
 195 200 205
 Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser
 210 215 220
 Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly
 225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn
 245 250 255
 Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala
 260 265 270
 Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val
 275 280 285
 Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly
 290 295 300

Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu
 305 310 315 320
 Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His
 325 330 335
 Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr
 340 345 350
 Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu
 355 360 365

Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser
 370 375 380
 Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400
 Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln
 405 410 415
 Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser
 420 425 430

 Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly
 435 440 445
 His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu
 450 455 460
 Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe His Leu Trp Arg Arg Gln Trp Arg Pro
 465 470 475 480
 Arg Arg Phe Ser Ala Leu Glu Gln Gly Ile His Pro Pro Gln Ala Gln
 485 490 495

 Ser Lys Ile Glu Glu Leu Glu Gln Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro
 500 505 510
 Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Pro Glu Gln Leu
 515 520 525

 <210> 17
 <211> 301
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> HAVCR2(TIM-3)
 <400> 17
 Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln

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

65						70						75						80
Arg	Tyr	Trp	Leu	Asn	Gly	Asp	Phe	Arg	Lys	Gly	Asp	Val	Ser	Leu	Thr			
					85						90						95	
Ile	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Ile	Tyr	Cys	Cys	Arg	Ile			
					100						105						110	
Gln	Ile	Pro	Gly	Ile	Met	Asn	Asp	Glu	Lys	Phe	Asn	Leu	Lys	Leu	Val			
					115						120						125	
Ile	Lys	Pro	Ala	Lys	Val	Thr	Pro	Ala	Pro	Thr	Arg	Gln	Arg	Asp	Phe			
					130						135						140	
Thr	Ala	Ala	Phe	Pro	Arg	Met	Leu	Thr	Thr	Arg	Gly	His	Gly	Pro	Ala			
					145						150						155	
Glu	Thr	Gln	Thr	Leu	Gly	Ser	Leu	Pro	Asp	Ile	Asn	Leu	Thr	Gln	Ile			
					165						170						175	
Ser	Thr	Leu	Ala	Asn	Glu	Leu	Arg	Asp	Ser	Arg	Leu	Ala	Asn	Asp	Leu			
					180						185						190	
Arg	Asp	Ser	Gly	Ala	Thr	Ile	Arg	Ile	Gly	Ile	Tyr	Ile	Gly	Ala	Gly			
					195						200						205	
Ile	Cys	Ala	Gly	Leu	Ala	Leu	Ala	Leu	Ile	Phe	Gly	Ala	Leu	Ile	Phe			
					210						215						220	
Lys	Trp	Tyr	Ser	His	Ser	Lys	Glu	Lys	Ile	Gln	Asn	Leu	Ser	Leu	Ile			
					225						230						235	
Ser	Leu	Ala	Asn	Leu	Pro	Pro	Ser	Gly	Leu	Ala	Asn	Ala	Val	Ala	Glu			
					245						250						255	
Gly	Ile	Arg	Ser	Glu	Glu	Asn	Ile	Tyr	Thr	Ile	Glu	Glu	Asn	Val	Tyr			
					260						265						270	
Glu	Val	Glu	Glu	Pro	Asn	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Tyr	Val	Ser	Ser	Arg	Gln			
					275						280						285	
Gln	Pro	Ser	Gln	Pro	Leu	Gly	Cys	Arg	Phe	Ala	Met	Pro						
					290						295						300	
<210> 18																		
<211> 526																		

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CEACAM1

<400> 18

Met Gly His Leu Ser Ala Pro Leu His Arg Val Arg Val Pro Trp Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Arg Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val

100 105 110

Thr Gln Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp

115 120 125

Leu Val Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu

130 135 140

Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Trp Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln

180 185 190

Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn

195 200 205

Asp Thr Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn

210					215					220									
Arg	Ser	Asp	Pro	Val	Thr	Leu	Asn	Val	Thr	Tyr	Gly	Pro	Asp	Thr	Pro				
225					230					235					240				
Thr	Ile	Ser	Pro	Ser	Asp	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Pro	Gly	Ala	Asn	Leu	Ser				
245					250					255									
Leu	Ser	Cys	Tyr	Ala	Ala	Ser	Asn	Pro	Pro	Ala	Gln	Tyr	Ser	Trp	Leu				
260					265					270									
Ile	Asn	Gly	Thr	Phe	Gln	Gln	Ser	Thr	Gln	Glu	Leu	Phe	Ile	Pro	Asn				
275					280					285									
Ile	Thr	Val	Asn	Asn	Ser	Gly	Ser	Tyr	Thr	Cys	His	Ala	Asn	Asn	Ser				
290					295					300									
Val	Thr	Gly	Cys	Asn	Arg	Thr	Thr	Val	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	Thr	Glu				
305					310					315					320				
Leu	Ser	Pro	Val	Val	Ala	Lys	Pro	Gln	Ile	Lys	Ala	Ser	Lys	Thr	Thr				
325					330					335									
Val	Thr	Gly	Asp	Lys	Asp	Ser	Val	Asn	Leu	Thr	Cys	Ser	Thr	Asn	Asp				
340					345					350									
Thr	Gly	Ile	Ser	Ile	Arg	Trp	Phe	Phe	Lys	Asn	Gln	Ser	Leu	Pro	Ser				
355					360					365									
Ser	Glu	Arg	Met	Lys	Leu	Ser	Gln	Gly	Asn	Thr	Thr	Leu	Ser	Ile	Asn				
370					375					380									
Pro	Val	Lys	Arg	Glu	Asp	Ala	Gly	Thr	Tyr	Trp	Cys	Glu	Val	Phe	Asn				
385					390					395					400				
Pro	Ile	Ser	Lys	Asn	Gln	Ser	Asp	Pro	Ile	Met	Leu	Asn	Val	Asn	Tyr				
405					410					415									
Asn	Ala	Leu	Pro	Gln	Glu	Asn	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly	Ala	Ile	Ala	Gly				
420					425					430									
Ile	Val	Ile	Gly	Val	Val	Ala	Leu	Val	Ala	Leu	Ile	Ala	Val	Ala	Leu				
435					440					445									
Ala	Cys	Phe	Leu	His	Phe	Gly	Lys	Thr	Gly	Arg	Ala	Ser	Asp	Gln	Arg				
450					455					460									

Asp Leu Thr Glu His Lys Pro Ser Val Ser Asn His Thr Gln Asp His
465 470 475 480

Ser Asn Asp Pro Pro Asn Lys Met Asn Glu Val Thr Tyr Ser Thr Leu
485 490 495

Asn Phe Glu Ala Gln Gln Pro Thr Gln Pro Thr Ser Ala Ser Pro Ser
500 505 510

Leu Thr Ala Thr Glu Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Lys Gln
515 520 525

<210> 19

<211> 244

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> TIGIT

<400> 19

Met Arg Trp Cys Leu Leu Leu Ile Trp Ala Gln Gly Leu Arg Gln Ala

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

Ile Ser Ala Glu Lys Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser
35 40 45

Ser Thr Thr Ala Gln Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln
50 55 60

Leu Leu Ala Ile Cys Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser

65 70 75 80
Phe Lys Asp Arg Val Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln
85 90 95

Ser Leu Thr Val Asn Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr
100 105 110

Tyr Pro Asp Gly Thr Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu
115 120 125

Ser Ser Val Ala Glu His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro Leu Leu Gly

130 135 140
Ala Met Ala Ala Thr Leu Val Val Ile Cys Thr Ala Val Ile Val Val
145 150 155 160
Val Ala Leu Thr Arg Lys Lys Lys Ala Leu Arg Ile His Ser Val Glu
165 170 175
Gly Asp Leu Arg Arg Lys Ser Ala Gly Gln Glu Glu Trp Ser Pro Ser
180 185 190
Ala Pro Ser Pro Pro Gly Ser Cys Val Gln Ala Glu Ala Ala Pro Ala

195 200 205
Gly Leu Cys Gly Glu Gln Arg Gly Glu Asp Cys Ala Glu Leu His Asp
210 215 220
Tyr Phe Asn Val Leu Ser Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Cys Ser Phe Phe
225 230 235 240
Thr Glu Thr Gly

<210> 20

<211> 417

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PVR(CD155)

<400> 20

Met Ala Arg Ala Met Ala Ala Ala Trp Pro Leu Leu Leu Val Ala Leu

1 5 10 15
Leu Val Leu Ser Trp Pro Pro Pro Gly Thr Gly Asp Val Val Val Gln
20 25 30
Ala Pro Thr Gln Val Pro Gly Phe Leu Gly Asp Ser Val Thr Leu Pro
35 40 45
Cys Tyr Leu Gln Val Pro Asn Met Glu Val Thr His Val Ser Gln Leu
50 55 60
Thr Trp Ala Arg His Gly Glu Ser Gly Ser Met Ala Val Phe His Gln
65 70 75 80
Thr Gln Gly Pro Ser Tyr Ser Glu Ser Lys Arg Leu Glu Phe Val Ala

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

 130 135 140
 Pro Gln Asn Thr Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro
 145 150 155 160
 Val Pro Met Ala Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln
 165 170 175
 Ile Thr Trp His Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val
 180 185 190
 Pro Gly Phe Leu Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu

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

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

 325 330 335

His Ser Gly Ile Ser Arg Asn Ala Ile Ile Phe Leu Val Leu Gly Ile
340 345 350
Leu Val Phe Leu Ile Leu Leu Gly Ile Gly Ile Tyr Phe Tyr Trp Ser
355 360 365
Lys Cys Ser Arg Glu Val Leu Trp His Cys His Leu Cys Pro Ser Ser
370 375 380
Thr Glu His Ala Ser Ala Ser Ala Asn Gly His Val Ser Tyr Ser Ala

385 390 395 400
Val Ser Arg Glu Asn Ser Ser Ser Gln Asp Pro Gln Thr Glu Gly Thr
405 410 415
Arg

<210> 21

<211> 538

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PVRL2(CD112)

<400> 21

Met Ala Arg Ala Ala Ala Leu Leu Pro Ser Arg Ser Pro Pro Thr Pro
1 5 10 15
Leu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Leu Leu Leu Glu Thr Gly Ala Gln
20 25 30

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

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

Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu His
115 120 125

Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala Thr
130 135 140

Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile Ala
145 150 155 160

Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln Asp
165 170 175

Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro Ala
180 185 190

Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr Gln
195 200 205

Val Ser Gly Thr Leu Ala Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Arg Phe Thr
210 215 220

Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys Val
225 230 235 240

Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu Ser
245 250 255

Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn Trp
260 265 270

Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser Asn
275 280 285

Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe Pro
290 295 300

Thr Ser Ala Val Ala Gln Gly Ser Gln Leu Val Ile His Ala Val Asp
305 310 315 320

Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val Gly
325 330 335

Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn Thr
340 345 350

Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly Ile Ile Gly Gly Ile Ile Ala Ala

355 360 365
 Ile Ile Ala Thr Ala Val Ala Ala Thr Gly Ile Leu Ile Cys Arg Gln
 370 375 380
 Gln Arg Lys Glu Gln Thr Leu Gln Gly Ala Glu Glu Asp Glu Asp Leu
 385 390 395 400
 Glu Gly Pro Pro Ser Tyr Lys Pro Pro Thr Pro Lys Ala Lys Leu Glu
 405 410 415

 Ala Gln Glu Met Pro Ser Gln Leu Phe Thr Leu Gly Ala Ser Glu His
 420 425 430
 Ser Pro Leu Lys Thr Pro Tyr Phe Asp Ala Gly Ala Ser Cys Thr Glu
 435 440 445
 Gln Glu Met Pro Arg Tyr His Glu Leu Pro Thr Leu Glu Glu Arg Ser
 450 455 460
 Gly Pro Leu His Pro Gly Ala Thr Ser Leu Gly Ser Pro Ile Pro Val
 465 470 475 480

 Pro Pro Gly Pro Pro Ala Val Glu Asp Val Ser Leu Asp Leu Glu Asp
 485 490 495
 Glu Glu Gly Glu Glu Glu Glu Tyr Leu Asp Lys Ile Asn Pro Ile
 500 505 510
 Tyr Asp Ala Leu Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Asp Ser Tyr Gln Gly Lys
 515 520 525
 Gly Phe Val Met Ser Arg Ala Met Tyr Val
 530 535

 <210> 22
 <211> 336
 <212> PRT

 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD226
 <400> 22

 Met Asp Tyr Pro Thr Leu Leu Leu Ala Leu Leu His Val Tyr Arg Ala
 1 5 10 15
 Leu Cys Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn

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

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

 115 120 125
 Ser Phe Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro
 130 135 140
 Gly Lys Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val
 145 150 155 160
 Gln Ala Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu
 165 170 175
 Thr Tyr Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro

 180 185 190
 Arg Gln Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val
 195 200 205
 Ile Pro Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu
 210 215 220
 Gln Ala Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val
 225 230 235 240
 Ala Glu Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala Gly Gly

 245 250 255
 Thr Val Leu Leu Leu Leu Phe Val Ile Ser Ile Thr Thr Ile Ile Val
 260 265 270

Ile Phe Leu Asn Arg Arg Arg Arg Arg Glu Arg Arg Asp Leu Phe Thr
275 280 285

Glu Ser Trp Asp Thr Gln Lys Ala Pro Asn Asn Tyr Arg Ser Pro Ile
290 295 300

Ser Thr Ser Gln Pro Thr Asn Gln Ser Met Asp Asp Thr Arg Glu Asp

305 310 315 320
Ile Tyr Val Asn Tyr Pro Thr Phe Ser Arg Arg Pro Lys Thr Arg Val
325 330 335

<210> 23

<211> 351

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD2

<400> 23

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn
1 5 10 15

Val Ser Ser Lys Gly Ala Val Ser Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu
20 25 30

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe
35 40 45

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp
50 55 60

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu
65 70 75 80

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His
85 90 95

Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr
100 105 110

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu
115 120 125

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu
130 135 140

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln
145 150 155 160

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp
165 170 175

Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val
180 185 190

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu
195 200 205

Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met
210 215 220

Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Lys Arg Lys Lys Gln
225 230 235 240

Arg Ser Arg Arg Asn Asp Glu Glu Leu Glu Thr Arg Ala His Arg Val
245 250 255

Ala Thr Glu Glu Arg Gly Arg Lys Pro His Gln Ile Pro Ala Ser Thr
260 265 270

Pro Gln Asn Pro Ala Thr Ser Gln His Pro Pro Pro Pro Pro Gly His
275 280 285

Arg Ser Gln Ala Pro Ser His Arg Pro Pro Pro Pro Gly His Arg Val
290 295 300

Gln His Gln Pro Gln Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Gly Thr Gln Val
305 310 315 320

His Gln Gln Lys Gly Pro Pro Leu Pro Arg Pro Arg Val Gln Pro Lys
325 330 335

Pro Pro His Gly Ala Ala Glu Asn Ser Leu Ser Pro Ser Ser Asn
340 345 350

<210> 24

<211> 180

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD160

<400> 24

Met Leu Leu Glu Pro Gly Arg Gly Cys Cys Ala Leu Ala Ile Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu Ile Cys Thr Val Trp His

35 40 45

Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val Phe Leu Cys Lys Asp Arg

50 55 60

Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu Lys Gln Leu Arg Leu Lys

65 70 75 80

Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu Ile Ser Ser Gln Leu Met

85 90 95

Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His Ser Gly Thr Tyr Gln Cys

100 105 110

Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg Leu Gln Gly His Phe Phe

115 120 125

Ser Ile Leu Phe Thr Glu Thr Gly Asn Tyr Thr Val Thr Gly Leu Lys

130 135 140

Gln Arg Gln His Leu Glu Phe Ser His Asn Glu Gly Thr Leu Ser Ser

145 150 155 160

Gly Phe Leu Gln Glu Lys Val Trp Val Met Leu Val Thr Ser Leu Val

165 170 175

Ala Leu Gln Ala

180

<210> 25

<

211> 278

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD200

<400> 25

Met Glu Arg Leu Val Ile Arg Met Pro Phe Ser His Leu Ser Thr Tyr

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

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

 115 120 125
 Gly Lys Ile Ser Gly Thr Ala Cys Leu Thr Val Tyr Val Gln Pro Ile
 130 135 140
 Val Ser Leu His Tyr Lys Phe Ser Glu Asp His Leu Asn Ile Thr Cys
 145 150 155 160
 Ser Ala Thr Ala Arg Pro Ala Pro Met Val Phe Trp Lys Val Pro Arg
 165 170 175
 Ser Gly Ile Glu Asn Ser Thr Val Thr Leu Ser His Pro Asn Gly Thr

 180 185 190
 Thr Ser Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Asp Pro Lys Asn Gln Val
 195 200 205
 Gly Lys Glu Val Ile Cys Gln Val Leu His Leu Gly Thr Val Thr Asp
 210 215 220
 Phe Lys Gln Thr Val Asn Lys Gly Tyr Trp Phe Ser Val Pro Leu Leu
 225 230 235 240
 Leu Ser Ile Val Ser Leu Val Ile Leu Leu Val Leu Ile Ser Ile Leu

 245 250 255

Leu Tyr Trp Lys Arg His Arg Asn Gln Asp Arg Gly Glu Leu Ser Gln
 260 265 270
 Gly Val Gln Lys Met Thr
 275
 <210> 26
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD200R1(CD200R)
 <400> 26
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
 1 5 10 15
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys
 20 25 30
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser
 35 40 45
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile
 50 55 60
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly
 65 70 75 80
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys
 85 90 95
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp
 100 105 110
 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly
 115 120 125
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly
 130 135 140
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn
 145 150 155 160
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala
 165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr
180 185 190
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val
195 200 205
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn
210 215 220
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser
225 230 235 240
Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr
245 250 255
Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr
260 265 270
Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro Val Val Glu Glu Asp Glu Met
275 280 285
Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr
290 295 300
Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Glu Ala Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr
305 310 315 320
Asp Leu His Thr Leu
325
<210> 27
<211> 201
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> NC R3 (NKp30)
<400> 27
Met Ala Trp Met Leu Leu Leu Ile Leu Ile Met Val His Pro Gly Ser
1 5 10 15
Cys Ala Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly
20 25 30
Ser Ser Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu
35 40 45

Ala Ile Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys
50 55 60

Glu Val Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu

65 70 75 80
Ala Ser Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg
85 90 95

Asp Val Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val
100 105 110

Leu Gly Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu
115 120 125

Lys Glu His Pro Gln Leu Gly Ala Gly Thr Val Leu Leu Leu Arg Ala

130 135 140
Gly Phe Tyr Ala Val Ser Phe Leu Ser Val Ala Val Gly Ser Thr Val
145 150 155 160

Tyr Tyr Gln Gly Lys Cys Leu Thr Trp Lys Gly Pro Arg Arg Gln Leu
165 170 175

Pro Ala Val Val Pro Ala Pro Leu Pro Pro Pro Cys Gly Ser Ser Ala
180 185 190

His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Gly
195 200

<210> 28

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD80(B7-1) ECD

<400> 28

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100

105

110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115

120

125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130

135

140

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

145

150

155

160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165

170

175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180

185

190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195

200

205

<210> 29

<211> 224

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD86(B7-2) ECD

<400> 29

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1

5

10

15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20

25

30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

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

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

 Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val
 165 170 175
 Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr
 180 185 190
 Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro
 210 215 220

<210> 30

<211> 220

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD274 (PD-L1, B7-H1) ECD

<400> 30

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
 1 5 10 15
 Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu

20 25 30
 Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
 35 40 45
 Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg

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

 115 120 125
 Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
 130 135 140
 Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
 145 150 155 160
 Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
 165 170 175
 Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr

 180 185 190
 Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile
 195 200 205
 Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg
 210 215 220
 <210> 31
 <211> 201
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> PDCD1LG2(PD-L2, CD273) ECD
 <400> 31
 Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile Glu His Gly

1 5 10 15

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

 Tyr Gln Cys Ile Ile Ile Tyr Gly Val Ala Trp Asp Tyr Lys Tyr Leu
 85 90 95
 Thr Leu Lys Val Lys Ala Ser Tyr Arg Lys Ile Asn Thr His Ile Leu
 100 105 110
 Lys Val Pro Glu Thr Asp Glu Val Glu Leu Thr Cys Gln Ala Thr Gly
 115 120 125
 Tyr Pro Leu Ala Glu Val Ser Trp Pro Asn Val Ser Val Pro Ala Asn
 130 135 140

 Thr Ser His Ser Arg Thr Pro Glu Gly Leu Tyr Gln Val Thr Ser Val
 145 150 155 160
 Leu Arg Leu Lys Pro Pro Pro Gly Arg Asn Phe Ser Cys Val Phe Trp
 165 170 175
 Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp Leu Gln Ser
 180 185 190
 Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr
 195 200
 <210> 32
 <211> 238
 <212> PRT
 <213>
 > Homo sapiens
 <220><223> ICOSLG(B7RP1, CD275, ICOSL, B7-H2) ECD
 <400> 32

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
 35 40 45
 Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
 50 55 60
 Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
 115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 33
 <211> 438

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223

> CD276(B7-H3) ECD

<400> 33

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

1 5 10 15

Asp Ala Thr Leu Cys Cys Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu

20 25 30

Ala Gln Leu Asn Leu Ile Trp Gln Leu Thr Asp Thr Lys Gln Leu Val

35 40 45

His Ser Phe Ala Glu Gly Gln Asp Gln Gly Ser Ala Tyr Ala Asn Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Arg Val Arg Val Ala Asp Glu Gly Ser Phe Thr Cys Phe Val

85 90 95

Ser Ile Arg Asp Phe Gly Ser Ala Ala Val Ser Leu Gln Val Ala Ala

100 105 110

Pro Tyr Ser Lys Pro Ser Met Thr Leu Glu Pro Asn Lys Asp Leu Arg

115 120 125

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

130 135 140

Glu Ala Glu Val Phe Trp Gln Asp Gly Gln Gly Val Pro Leu Thr Gly

145 150 155 160

Asn Val Thr Thr Ser Gln Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val

165 170 175

His Ser Ile Leu Arg Val Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
 Glu Asp Pro Val Val Ala Leu Val Gly Thr Asp Ala Thr Leu Arg Cys
 225 230 235 240
 Ser Phe Ser Pro Glu Pro Gly Phe Ser Leu Ala Gln Leu Asn Leu Ile
 245 250 255

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

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

 Met Ala Asn Glu Gln Gly Leu Phe Asp Val His Ser Val Leu Arg Val
 385 390 395 400
 Val Leu Gly Ala Asn Gly Thr Tyr Ser Cys Leu Val Arg Asn Pro Val
 405 410 415
 Leu Gln Gln Asp Ala His Gly Ser Val Thr Ile Thr Gly Gln Pro Met
 420 425 430
 Thr Phe Pro Pro Glu Ala
 435
 <210> 34
 <211> 235
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><

223> VTCN1(B7-H4) ECD

<400> 34

Leu Ile Ile Gly Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Phe Glu Pro Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu

35 40 45

Lys Glu Gly Val Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp

50 55 60

Glu Leu Ser Glu Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe

65 70 75 80

Ala Asp Gln Val Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val

85 90 95

Gln Leu Thr Asp Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys

100 105 110

Gly Lys Gly Asn Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met

115 120 125

Pro Glu Val Asn Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Thr Leu Arg Cys

130 135 140

Glu Ala Pro Arg Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln

145 150 155 160

Val Asp Gln Gly Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu

165 170 175

Leu Asn Ser Glu Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn

180 185 190

Val Thr Ile Asn Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala

195 200 205

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

210 215 220

Ser His Leu Gln Leu Leu Asn Ser Lys Ala Ser

225 230 235

<210> 35

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD28 ECD

<400> 35

Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr Asp Asn

1 5 10 15
Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser Arg Glu

20 25 30
Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu Val Cys

35 40 45
Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser Lys Thr

50 55 60
Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr Phe Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys Lys Ile

85 90 95
Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn Gly

100 105 110
Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe

115 120 125
Pro Gly Pro Ser Lys Pro

130

<210> 36

<211> 126

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CTLA4 ECD

<400> 36

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp

115 120 125

<210> 37

<211> 150

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PDCD1(PD-1) ECD

<400> 37

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

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

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn
85 90 95
Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala
100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg
115 120 125
Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly
130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val
145 150

<210> 38

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> ICOS ECD

<400> 38

Glu Ile Asn Gly Ser Ala Asn Tyr Glu Met Phe Ile Phe His Asn Gly
1 5 10 15

Gly Val Gln Ile Leu Cys Lys Tyr Pro Asp Ile Val Gln Gln Phe Lys
20 25 30
Met Gln Leu Leu Lys Gly Gly Gln Ile Leu Cys Asp Leu Thr Lys Thr
35 40 45

Lys Gly Ser Gly Asn Thr Val Ser Ile Lys Ser Leu Lys Phe Cys His
50 55 60

Ser Gln Leu Ser Asn Asn Ser Val Ser Phe Phe Leu Tyr Asn Leu Asp
65 70 75 80

His Ser His Ala Asn Tyr Tyr Phe Cys Asn Leu Ser Ile Phe Asp Pro
85 90 95
Pro Pro Phe Lys Val Thr Leu Thr Gly Gly Tyr Leu His Ile Tyr Glu
100 105 110

Ser Gln Leu Cys Cys Gln Leu Lys
115 120

<210> 39

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> BTLA(CD272) ECD

<400> 39

Lys Glu Ser Cys Asp Val Gln Leu Tyr Ile Lys Arg Gln Ser Glu His
1 5 10 15

Ser Ile Leu Ala Gly Asp Pro Phe Glu Leu Glu Cys Pro Val Lys Tyr
20 25 30

Cys Ala Asn Arg Pro His Val Thr Trp Cys Lys Leu Asn Gly Thr Thr
35 40 45

Cys Val Lys Leu Glu Asp Arg Gln Thr Ser Trp Lys Glu Glu Lys Asn
50 55 60

Ile Ser Phe Phe Ile Leu His Phe Glu Pro Val Leu Pro Asn Asp Asn
65 70 75 80

Gly Ser Tyr Arg Cys Ser Ala Asn Phe Gln Ser Asn Leu Ile Glu Ser
85 90 95

His Ser Thr Thr Leu Tyr Val Thr Asp Val Lys Ser Ala Ser Glu Arg
100 105 110

Pro Ser Lys Asp Glu Met Ala Ser Arg Pro Trp Leu Leu Tyr Arg
115 120 125

<210> 40

<211> 371

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD4 ECD

<400> 40

Lys Lys Val Val Leu Gly Lys Lys Gly Asp Thr Val Glu Leu Thr Cys

1 5 10 15

Thr Ala Ser Gln Lys Lys Ser Ile Gln Phe His Trp Lys Asn Ser Asn
20 25 30

Gln Ile Lys Ile Leu Gly Asn Gln Gly Ser Phe Leu Thr Lys Gly Pro
 35 40 45
 Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln
 50 55 60
 Gly Asn Phe Pro Leu Ile Ile Lys Asn Leu Lys Ile Glu Asp Ser Asp
 65 70 75 80
 Thr Tyr Ile Cys Glu Val Glu Asp Gln Lys Glu Glu Val Gln Leu Leu
 85 90 95
 Val Phe Gly Leu Thr Ala Asn Ser Asp Thr His Leu Leu Gln Gly Gln
 100 105 110
 Ser Leu Thr Leu Thr Leu Glu Ser Pro Pro Gly Ser Ser Pro Ser Val
 115 120 125
 Gln Cys Arg Ser Pro Arg Gly Lys Asn Ile Gln Gly Gly Lys Thr Leu
 130 135 140
 Ser Val Ser Gln Leu Glu Leu Gln Asp Ser Gly Thr Trp Thr Cys Thr
 145 150 155 160
 Val Leu Gln Asn Gln Lys Lys Val Glu Phe Lys Ile Asp Ile Val Val
 165 170 175
 Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser Ser Ile Val Tyr Lys Lys Glu Gly Glu
 180 185 190
 Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro Leu Ala Phe Thr Val Glu Lys Leu Thr
 195 200 205
 Gly Ser Gly Glu Leu Trp Trp Gln Ala Glu Arg Ala Ser Ser Ser Lys
 210 215 220
 Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu Lys Asn Lys Glu Val Ser Val Lys Arg
 225 230 235 240
 Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu Gln Met Gly Lys Lys Leu Pro Leu His
 245 250 255
 Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu Pro Gln Tyr Ala Gly Ser Gly Asn Leu
 260 265 270
 Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys Thr Gly Lys Leu His Gln Glu Val Asn

275 280 285
 Leu Val Val Met Arg Ala Thr Gln Leu Gln Lys Asn Leu Thr Cys Glu
 290 295 300
 Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro Lys Leu Met Leu Ser Leu Lys Leu Glu
 305 310 315 320
 Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser Lys Arg Glu Lys Ala Val Trp Val Leu

325 330 335
 Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp Gln Cys Leu Leu Ser Asp Ser Gly Gln
 340 345 350
 Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro
 355 360 365

Val Gln Pro

370

<210> 41

<211> 161

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD8A(CD8-alpha) ECD

<400> 41

Ser Gln Phe Arg Val Ser Pro Leu Asp Arg Thr Trp Asn Leu Gly Glu

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

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

100 105 110
Pro Ala Lys Pro Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala
115 120 125
Pro Thr Ile Ala Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg

130 135 140
Pro Ala Ala Gly Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys
145 150 155 160
Asp

<210> 42

<211> 149

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD8B(CD8-beta) ECD

<400> 42

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

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

Ile Val Gly Ser Pro Glu Leu Thr Phe Gly Lys Gly Thr Gln Leu Ser
100 105 110
Val Val Asp Phe Leu Pro Thr Thr Ala Gln Pro Thr Lys Lys Ser Thr
115 120 125
Leu Lys Lys Arg Val Cys Arg Leu Pro Arg Pro Glu Thr Gln Lys Gly

130 135 140
 Pro Leu Cys Ser Pro
 145
 <210> 43
 <211> 422
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> LAG3 ECD

 <400> 43
 Val Pro Val Val Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys
 1 5 10 15
 Ser Pro Thr Ile Pro Leu Gln Asp Leu Ser Leu Leu Arg Arg Ala Gly
 20 25 30
 Val Thr Trp Gln His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro
 35 40 45
 Gly His Pro Leu Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp
 50 55 60

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

 Ala Leu Ser Cys Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr
 130 135 140
 Ala Ser Pro Pro Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn
 145 150 155 160
 Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg
 165 170 175
 Asn Arg Gly Gln Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His

180 185 190
 Leu Ala Glu Ser Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser
 195 200 205
 Gly Pro Trp Gly Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser
 210 215 220
 Ile Met Tyr Asn Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu
 225 230 235 240
 Thr Val Tyr Ala Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu
 245 250 255

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

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

 Gln Leu Tyr Gln Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr
 385 390 395 400
 Glu Leu Ser Ser Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala
 405 410 415
 Leu Pro Ala Gly His Leu
 420

<210> 44

<211> 181

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> HAVCR2(TIM-3) ECD

<400> 44

Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln Asn Ala Tyr Leu Pro

1 5 10 15

Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu Val Pro Val Cys Trp

20 25 30

Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly Asn Val Val Leu Arg

35 40 45

Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser Arg Tyr Trp Leu Asn

50 55 60

Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr Ile Glu Asn Val Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val Ile Lys Pro Ala Lys

100 105 110

Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe Thr Ala Ala Phe Pro

115 120 125

Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala Glu Thr Gln Thr Leu

130 135 140

Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile Ser Thr Leu Ala Asn

145 150 155 160

Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu Arg Asp Ser Gly Ala

165 170 175

Thr Ile Arg Ile Gly

180

<210> 45

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CEACAM1 ECD

<400> 45

Gln Leu Thr Thr Glu Ser Met Pro Phe Asn Val Ala Glu Gly Lys Glu

1 5 10 15

Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Gln Leu Phe Gly Tyr Ser

20 25 30

Trp Tyr Lys Gly Glu Arg Val Asp Gly Asn Arg Gln Ile Val Gly Tyr

35 40 45

Ala Ile Gly Thr Gln Gln Ala Thr Pro Gly Pro Ala Asn Ser Gly Arg

50 55 60

Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Ile Gln Asn Val Thr Gln

65 70 75 80

Asn Asp Thr Gly Phe Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Ser Asp Leu Val

85 90 95

Asn Glu Glu Ala Thr Gly Gln Phe His Val Tyr Pro Glu Leu Pro Lys

100 105 110

Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys Asp Ala

115 120 125

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

130 135 140

Trp Ile Asn Asn Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln Leu Ser

145 150 155 160

Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn Asp Thr

165 170 175

Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Val Ser Ala Asn Arg Ser

180 185 190

Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Thr Tyr Gly Pro Asp Thr Pro Thr Ile

195 200 205

Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr Arg Pro Gly Ala Asn Leu Ser Leu Ser

210 215 220
 Cys Tyr Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ala Gln Tyr Ser Trp Leu Ile Asn
 225 230 235 240
 Gly Thr Phe Gln Gln Ser Thr Gln Glu Leu Phe Ile Pro Asn Ile Thr
 245 250 255
 Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Thr Cys His Ala Asn Asn Ser Val Thr
 260 265 270

 Gly Cys Asn Arg Thr Thr Val Lys Thr Ile Ile Val Thr Glu Leu Ser
 275 280 285
 Pro Val Val Ala Lys Pro Gln Ile Lys Ala Ser Lys Thr Thr Val Thr
 290 295 300
 Gly Asp Lys Asp Ser Val Asn Leu Thr Cys Ser Thr Asn Asp Thr Gly
 305 310 315 320
 Ile Ser Ile Arg Trp Phe Phe Lys Asn Gln Ser Leu Pro Ser Ser Glu
 325 330 335

 Arg Met Lys Leu Ser Gln Gly Asn Thr Thr Leu Ser Ile Asn Pro Val
 340 345 350
 Lys Arg Glu Asp Ala Gly Thr Tyr Trp Cys Glu Val Phe Asn Pro Ile
 355 360 365
 Ser Lys Asn Gln Ser Asp Pro Ile Met Leu Asn Val Asn Tyr Asn Ala
 370 375 380
 Leu Pro Gln Glu Asn Gly Leu Ser Pro Gly
 385 390
 <210> 46
 <211> 120
 <212> PRT

 <213> Homo sapiens
 <220><223> TIGIT ECD
 <400> 46
 Met Met Thr Gly Thr Ile Glu Thr Thr Gly Asn Ile Ser Ala Glu Lys
 1 5 10 15
 Gly Gly Ser Ile Ile Leu Gln Cys His Leu Ser Ser Thr Thr Ala Gln

20 25 30
Val Thr Gln Val Asn Trp Glu Gln Gln Asp Gln Leu Leu Ala Ile Cys
35 40 45
Asn Ala Asp Leu Gly Trp His Ile Ser Pro Ser Phe Lys Asp Arg Val
50 55 60
Ala Pro Gly Pro Gly Leu Gly Leu Thr Leu Gln Ser Leu Thr Val Asn
65 70 75 80
Asp Thr Gly Glu Tyr Phe Cys Ile Tyr His Thr Tyr Pro Asp Gly Thr
85 90 95
Tyr Thr Gly Arg Ile Phe Leu Glu Val Leu Glu Ser Ser Val Ala Glu
100 105 110
His Gly Ala Arg Phe Gln Ile Pro
115 120

<210> 47

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PVR(CD155) ECD

<400> 47

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

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

100 105 110
Arg Ser Val Asp Ile Trp Leu Arg Val Leu Ala Lys Pro Gln Asn Thr

115 120 125
Ala Glu Val Gln Lys Val Gln Leu Thr Gly Glu Pro Val Pro Met Ala

130 135 140
Arg Cys Val Ser Thr Gly Gly Arg Pro Pro Ala Gln Ile Thr Trp His

145 150 155 160
Ser Asp Leu Gly Gly Met Pro Asn Thr Ser Gln Val Pro Gly Phe Leu

165 170 175
Ser Gly Thr Val Thr Val Thr Ser Leu Trp Ile Leu Val Pro Ser Ser

180 185 190
Gln Val Asp Gly Lys Asn Val Thr Cys Lys Val Glu His Glu Ser Phe

195 200 205
Glu Lys Pro Gln Leu Leu Thr Val Asn Leu Thr Val Tyr Tyr Pro Pro

210 215 220
Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asn Asn Trp Tyr Leu Gly Gln Asn

225 230 235 240
Glu Ala Thr Leu Thr Cys Asp Ala Arg Ser Asn Pro Glu Pro Thr Gly

245 250 255
Tyr Asn Trp Ser Thr Thr Met Gly Pro Leu Pro Pro Phe Ala Val Ala

260 265 270
Gln Gly Ala Gln Leu Leu Ile Arg Pro Val Asp Lys Pro Ile Asn Thr

275 280 285
Thr Leu Ile Cys Asn Val Thr Asn Ala Leu Gly Ala Arg Gln Ala Glu

290 295 300
Leu Thr Val Gln Val Lys Glu Gly Pro Pro Ser Glu His Ser Gly Ile

305 310 315 320
Ser Arg Asn

<210> 48

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> PVRL2(CD112) ECD

<400> 48

Gln Asp Val Arg Val Gln Val Leu Pro Glu Val Arg Gly Gln Leu Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Glu Leu Pro Cys His Leu Leu Pro Pro Val Pro Gly Leu

20 25 30

Tyr Ile Ser Leu Val Thr Trp Gln Arg Pro Asp Ala Pro Ala Asn His

35 40 45

Gln Asn Val Ala Ala Phe His Pro Lys Met Gly Pro Ser Phe Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Gln Asp Thr Glu Ala Glu Leu Gln Asp Ala Thr Leu Ala Leu

85 90 95

His Gly Leu Thr Val Glu Asp Glu Gly Asn Tyr Thr Cys Glu Phe Ala

100 105 110

Thr Phe Pro Lys Gly Ser Val Arg Gly Met Thr Trp Leu Arg Val Ile

115 120 125

Ala Lys Pro Lys Asn Gln Ala Glu Ala Gln Lys Val Thr Phe Ser Gln

130 135 140

Asp Pro Thr Thr Val Ala Leu Cys Ile Ser Lys Glu Gly Arg Pro Pro

145 150 155 160

Ala Arg Ile Ser Trp Leu Ser Ser Leu Asp Trp Glu Ala Lys Glu Thr

165 170 175

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

180 185 190

Thr Leu Val Pro Ser Gly Arg Ala Asp Gly Val Thr Val Thr Cys Lys

195 200 205

Val Glu His Glu Ser Phe Glu Glu Pro Ala Leu Ile Pro Val Thr Leu

210 215 220

Ser Val Arg Tyr Pro Pro Glu Val Ser Ile Ser Gly Tyr Asp Asp Asn

225 230 235 240

Trp Tyr Leu Gly Arg Thr Asp Ala Thr Leu Ser Cys Asp Val Arg Ser

245 250 255

Asn Pro Glu Pro Thr Gly Tyr Asp Trp Ser Thr Thr Ser Gly Thr Phe

260 265 270

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

275 280 285

Asp Ser Leu Phe Asn Thr Thr Phe Val Cys Thr Val Thr Asn Ala Val

290 295 300

Gly Met Gly Arg Ala Glu Gln Val Ile Phe Val Arg Glu Thr Pro Asn

305 310 315 320

Thr Ala Gly Ala Gly Ala Thr Gly Gly

325

<210> 49

<211> 236

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD226 ECD

<400> 49

Glu Glu Val Leu Trp His Thr Ser Val Pro Phe Ala Glu Asn Met Ser

1 5 10 15

Leu Glu Cys Val Tyr Pro Ser Met Gly Ile Leu Thr Gln Val Glu Trp

20 25 30

Phe Lys Ile Gly Thr Gln Gln Asp Ser Ile Ala Ile Phe Ser Pro Thr

35 40 45

His Gly Met Val Ile Arg Lys Pro Tyr Ala Glu Arg Val Tyr Phe Leu

50 55 60

Asn Ser Thr Met Ala Ser Asn Asn Met Thr Leu Phe Phe Arg Asn Ala

65 70 75 80

Ser Glu Asp Asp Val Gly Tyr Tyr Ser Cys Ser Leu Tyr Thr Tyr Pro

85 90 95
 Gln Gly Thr Trp Gln Lys Val Ile Gln Val Val Gln Ser Asp Ser Phe
 100 105 110
 Glu Ala Ala Val Pro Ser Asn Ser His Ile Val Ser Glu Pro Gly Lys
 115 120 125
 Asn Val Thr Leu Thr Cys Gln Pro Gln Met Thr Trp Pro Val Gln Ala
 130 135 140
 Val Arg Trp Glu Lys Ile Gln Pro Arg Gln Ile Asp Leu Leu Thr Tyr

 145 150 155 160
 Cys Asn Leu Val His Gly Arg Asn Phe Thr Ser Lys Phe Pro Arg Gln
 165 170 175
 Ile Val Ser Asn Cys Ser His Gly Arg Trp Ser Val Ile Val Ile Pro
 180 185 190
 Asp Val Thr Val Ser Asp Ser Gly Leu Tyr Arg Cys Tyr Leu Gln Ala
 195 200 205
 Ser Ala Gly Glu Asn Glu Thr Phe Val Met Arg Leu Thr Val Ala Glu

 210 215 220
 Gly Lys Thr Asp Asn Gln Tyr Thr Leu Phe Val Ala
 225 230 235
 <210> 50
 <211> 185
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD2 ECD
 <400> 50
 Lys Glu Ile Thr Asn Ala Leu Glu Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp
 1 5 10 15
 Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp
 20 25 30

 Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg
 35 40 45
 Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys

50 55 60
 Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His Leu Lys Thr Asp Asp Gln Asp Ile
 65 70 75 80
 Tyr Lys Val Ser Ile Tyr Asp Thr Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys
 85 90 95

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

 Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro
 165 170 175
 Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu Asp
 180 185

 <210> 51
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD160 ECD
 <400> 51

 Ile Asn Ile Thr Ser Ser Ala Ser Gln Glu Gly Thr Arg Leu Asn Leu
 1 5 10 15
 Ile Cys Thr Val Trp His Lys Lys Glu Glu Ala Glu Gly Phe Val Val
 20 25 30

 Phe Leu Cys Lys Asp Arg Ser Gly Asp Cys Ser Pro Glu Thr Ser Leu
 35 40 45
 Lys Gln Leu Arg Leu Lys Arg Asp Pro Gly Ile Asp Gly Val Gly Glu
 50 55 60
 Ile Ser Ser Gln Leu Met Phe Thr Ile Ser Gln Val Thr Pro Leu His

65 70 75 80
Ser Gly Thr Tyr Gln Cys Cys Ala Arg Ser Gln Lys Ser Gly Ile Arg
 85 90 95

Leu	Gln	Gly	His	Phe	Phe	Ser	Ile	Leu	Phe	Thr	Glu	Thr	Gly	Asn	Tyr
			100					105					110		
Thr	Val	Thr	Gly	Leu	Lys	Gln	Arg	Gln	His	Leu	Glu	Phe	Ser	His	Asn
			115				120					125			

Glu Gly Thr Leu Ser
130

<210> 52

 $\langle 211 \rangle$ 202

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD200 ECD

<400> 52

Gln Val Gln Val Val Thr Gln Asp Glu Arg Glu Gln Leu Tyr Thr Pro
1 5 10 15

Ala Ser Leu Lys Cys Ser Leu Gln Asn Ala Gln Glu Ala Leu Ile Val
20 25 30

Thr Trp Gln Lys Lys Lys Ala Val Ser Pro Glu Asn Met Val Thr Phe
35 40 45

Ser Glu Asn His Gly Val Val Ile Gln Pro Ala Tyr Lys Asp Lys Ile
50 55 60

Asn Ile Thr Gln Leu Gly Leu Gln Asn Ser Thr Ile Thr Phe Trp Asn
65 70 75 80

Ile Thr Leu Glu Asp Glu Gly Cys Tyr Met Cys Leu Phe Asn Thr Phe
85 90 95

Gly Phe Gly Lys Ile Ser Gly Thr Ala Cys Leu Thr Val Tyr Val Gln

100 105 110

Pro Ile Val Ser Leu His Tyr Lys Phe Ser Glu Asp His Leu Asn Ile
115 120 125

Thr Cys Ser Ala Thr Ala Arg Pro Ala Pro Met Val Phe Trp Lys Val

130 135 140
 Pro Arg Ser Gly Ile Glu Asn Ser Thr Val Thr Leu Ser His Pro Asn
 145 150 155 160
 Gly Thr Thr Ser Val Thr Ser Ile Leu His Ile Lys Asp Pro Lys Asn
 165 170 175
 Gln Val Gly Lys Glu Val Ile Cys Gln Val Leu His Leu Gly Thr Val
 180 185 190
 Thr Asp Phe Lys Gln Thr Val Asn Lys Gly
 195 200
 <210> 53
 <211> 215
 <212> PRT

 <213> Homo sapiens
 <220><223> CD200R1(CD200R) ECD
 <400> 53
 Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu
 1 5 10 15
 Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys
 20 25 30
 Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile
 35 40 45
 Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr

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

 115 120 125

Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly
 130 135 140
 Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr
 145 150 155 160
 Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys
 165 170 175
 His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His
 180 185 190
 Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly
 195 200 205
 Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu
 210 215
 <210> 54
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> NC R3 (NKp30) ECD
 <400> 54
 Leu Trp Val Ser Gln Pro Pro Glu Ile Arg Thr Leu Glu Gly Ser Ser
 1 5 10 15
 Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile
 20 25 30
 Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
 35 40 45
 Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser
 50 55 60
 Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
 65 70 75 80
 Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
 85 90 95
 Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu
 100 105 110

His Pro Gln Leu Gly

115

<210> 55

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v1 ECD

<400> 55

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 56
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v2 ECD
<400> 56

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

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

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 57
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v3 ECD
 <400> 57
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60
 Leu Ser Ile Val Ile Gln Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
 65 70 75 80
 Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ala Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 58
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v4 ECD
<400> 58

Val Ile His Met Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 59

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v5 ECD

<400> 59

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45
Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Gln Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110
Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125
Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 60

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v6 ECD

<400> 60

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Leu Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ser Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 61

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v7 ECD

<400> 61

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

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

130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

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

195 200 205

<210> 62

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v8 ECD

<400> 62

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

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

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 63
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v9 ECD
 <400> 63
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60
 Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
 65 70 75 80
 Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 64
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v10 ECD
<400> 64

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205
<210> 65
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v11 ECD
<400> 65
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45
Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Gln Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Ala Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110
Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Thr Cys
115 120 125
Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165

170

175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180

185

190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195

200

205

<210> 66

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v12 ECD

<400> 66

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Asn Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100

105

110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115

120

125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130

135

140

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

145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 67

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v13 ECD

<400> 67

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

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

 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 68
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v14 ECD
 <400> 68
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30

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

 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 69

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v15 ECD

<400> 69

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Glu Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Thr Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 70

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v16 ECD

<400> 70

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

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

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 71

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v17 ECD

<400> 71

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Glu Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Ser Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 72

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v18 ECD

<400> 72

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Pro Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190

 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 73
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v19 ECD
 <400> 73
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

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

 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 74
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v20 ECD
 <400> 74
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15

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

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

130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 75

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v21 ECD

<400> 75

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

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

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205
<210> 76
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v22 ECD
<400> 76
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45
Ile Trp Pro Glu Tyr Met Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110
Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 77

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v23 ECD

<400> 77

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Thr Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45
Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110
Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 78

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v24 ECD

<400> 78

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr His Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Gly Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Arg Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Gly Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175

 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 79
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v25 ECD
 <400> 79
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile His Trp

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

 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 80
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> CD80 v26 ECD
 <400> 80
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60

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

115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190

 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 81
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v27 ECD
 <400> 81
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

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

 100 105 110

Ile Ser Asp Leu Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 82
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v28 ECD
<400> 82

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr His Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Gly Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125
Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 83

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v29 ECD

<400> 83

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45
Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Ser Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125
Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 84

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v30 ECD

<400> 84

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

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

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 85

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v31 ECD

<400> 85

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
 Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Ala Pro Ser

100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

 195 200 205
 <210> 86
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v32 ECD
 <400> 86
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Val Val Leu Asp Met Ile Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45

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

100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 87
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v33 ECD
 <400> 87
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Ala Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60
 Leu Ser Ile Val Ile Gln Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
 65 70 75 80
 Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
 85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Pro Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 88
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> CD80 v34 ECD
 <400> 88
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Val Thr Leu Phe Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile His Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Gly Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60

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

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Leu His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Thr Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 89

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v35 ECD

<400> 89

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

Leu Ser Phe Val Ile Arg Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Gly Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 90

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v36 ECD

<400> 90

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Gly Pro Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

<210> 91

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v37 ECD

<400> 91

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

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

85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Leu Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Ser Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 92
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v38 ECD
 <400> 92
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp
 20 25 30

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Thr Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 93

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v39 ECD

<400> 93

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp

20 25 30

His Lys Glu Gly Lys Ile Val Leu Ala Met Arg Ser Gly Asp Thr Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Ser
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Ser Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 94
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v40 ECD
<400> 94

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp
20 25 30

His Lys Glu Gly Lys Ile Val Leu Ala Thr Arg Ser Gly Asp Thr Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Ser Ser Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 95

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v41 ECD

<400> 95

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Gly Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp
20 25 30

His Lys Glu Gly Lys Ile Val Leu Ala Met Arg Ser Gly Asp Thr Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Leu Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

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

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu Arg

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Ser Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 96

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v42 ECD

<400> 96

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp

20 25 30

His Lys Glu Gly Lys Ile Val Leu Ala Met Arg Ser Gly Asp Thr Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

				70				75				80			
Val	Cys	Val	Val	Arg	Lys	Tyr	Glu	Asn	Asp	Thr	Pro	Val	Leu	Glu	His
				85				90				95			
Leu	Ala	Glu	Val	Thr	Leu	Ser	Val	Lys	Ala	Asp	Phe	Pro	Thr	Pro	Ser
				100				105				110			
Ile	Ser	Asp	Phe	Glu	Ile	Pro	Thr	Ser	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile	Ile	Cys
				115				120				125			

Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	His	Leu	Ser	Trp	Leu	Glu	Asn	
130						135						140				
Gly	Glu	Glu	Leu	Ser	Ala	Ile	Asn	Thr	Thr	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	
145						150						155			160	
Thr	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Ser	Ser	Lys	Leu	Asp	Phe	Asn	Met	Thr	Thr	
			165						170						175	
Asn	His	Ser	Phe	Met	Cys	Leu	Ile	Lys	Tyr	Gly	His	Leu	Arg	Val	Asn	
			180						185						190	

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 97

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v43 ECD

<400> 97

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

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

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

 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 98
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v44 ECD
 <400> 98
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15

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

65					70					75					80
Glu	Cys	Val	Val	Leu	Lys	Tyr	Glu	Lys	Asp	Gly	Phe	Lys	Arg	Glu	His
				85					90					95	
Leu	Ala	Glu	Val	Thr	Leu	Ser	Val	Lys	Ala	Asp	Phe	Pro	Thr	Pro	Ser
				100					105					110	
Ile	Ser	Asp	Phe	Glu	Ile	Pro	Thr	Ser	Asn	Ile	Arg	Arg	Ile	Ile	Cys
				115					120					125	
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Phe	Pro	Glu	Pro	His	Leu	Ser	Trp	Leu	Glu	Asn
				130					135					140	

Gly	Glu	Glu	Leu	Asn	Ala	Ile	Asn	Thr	Thr	Val	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu
145					150					155					160
Thr	Glu	Leu	Tyr	Ala	Val	Ser	Ser	Lys	Leu	Asp	Phe	Asn	Met	Thr	Thr
				165					170					175	
Asn	His	Ser	Phe	Met	Cys	Leu	Ile	Lys	Tyr	Gly	His	Leu	Arg	Val	Asn
			180						185					190	
Gln	Thr	Phe	Asn	Trp	Asn	Thr	Thr	Lys	Gln	Glu	His	Phe	Pro	Asp	Asn
		195					200					205			

<210> 99

<211> 208

&lt212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v45 ECD

<400> 99

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

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
 65 70 75 80
 Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Arg Lys Gly Tyr Arg Arg Glu His
 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Ser Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Ser His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 100
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v46 ECD
 <400> 100
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
 50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Arg Lys Gly Tyr Arg Arg Glu His
85 90 95

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

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 101

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v47 ECD

<400> 101

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu His

85 90 95

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

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Ala Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 102

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v48 ECD

<400> 102

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

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

 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175

 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

 <210> 103
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD80 v49 ECD
 <400> 103
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

 20 25 30
 Gln Lys Glu Gly Gln Ile Val Met Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

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

 85 90 95
 Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
 100 105 110
 Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
 115 120 125
 Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
 130 135 140
 Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu

 145 150 155 160
 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205
 <210> 104
 <211> 208
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> CD80 v50 ECD
 <400> 104
 Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
 20 25 30
 Gln Lys Glu Gly Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
 35 40 45
 Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195 200 205

<210> 105

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v51 ECD

<400> 105

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr His Ile His Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Gly Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60
Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Asn Gly Glu Asn Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Ser
100 105 110
Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125
Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140
Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160
Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175
Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190
Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205
<210> 106
<211> 208
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD80 v52 ECD
<400> 106
Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Thr Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15
Gly Leu Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20 25 30
Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Val Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Leu Asp Ile Thr Asn Asn
50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Lys Gly Thr Tyr
65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Ser
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Thr Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
195 200 205

<210> 107

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v53 ECD

<400> 107

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Val Ile Phe Trp
20 25 30

Gln Lys Glu Gly Lys Leu Val Leu Thr Met Gln Ser Gly Asp Met Asn
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Arg Cys Ile Val Ile Lys Tyr Glu Arg Leu Glu Asn Gln Gly Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser

100

105

110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys

115

120

125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn

130

135

140

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

145

150

155

160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr

165

170

175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn

180

185

190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

195

200

205

<210> 108

<211> 208

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v54 ECD

<400> 108

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

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

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

 Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
 165 170 175
 Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
 180 185 190
 Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn
 195 200 205

 <210> 109
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v1 ECD
 <400> 109
 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

35 40 45
 Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
 50 55 60
 Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu

 65 70 75 80
 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
 115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 110
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v2 ECD
 <400> 110
 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

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

 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
 115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
 130 135 140

 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205

 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 111
 <211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v3 ECD

<400> 111

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

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

210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 112
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v4 ECD
 <400> 112
 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30

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

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

 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Pro Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 113

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v5 ECD

<400> 113

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

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

100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

 165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

 180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

 195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

 210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 114

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v6 ECD

<400> 114

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

 20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

 35 40 45

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

50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

 85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

 100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Cys Pro Arg Pro Asn Val Cys Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 115

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v7 ECD

<400> 115

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln His Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Arg Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235
<210> 116
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ICOSL v8 ECD
<400> 116
Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln His Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

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

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Asp Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Ala Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 117

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v9 ECD

<400> 117

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

 65 70 75 80
 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
 115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Arg Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Ala Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 118
 <211> 238
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v10 ECD

<400> 118

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln His Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Arg Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235
<210> 119
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ICOSL v11 ECD
<400> 119
Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln His Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Gly Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 120
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ICOSL v12 ECD
<400> 120

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Tyr Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220

 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 121
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v13 ECD
 <400> 121
 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

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

 100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 122

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v14 ECD

<400> 122

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Tyr Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Pro Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 123

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v15 ECD

<400> 123

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85

90

95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100

105

110

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

115

120

125

His Gly Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130

135

140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Cys Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145

150

155

160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165

170

175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180

185

190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195

200

205

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

210

215

220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225

230

235

<210> 124

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v16 ECD

<400> 124

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

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

 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Cys Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190

 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 125
 <211> 238
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v17 ECD

<400> 125

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45
Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn

50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu

65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Arg Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 126

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v18 ECD

<400> 126

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Cys Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195

200

205

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

210

215

220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225

230

235

<210> 127

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v19 ECD

<400> 127

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1

5

10

15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20

25

30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85

90

95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100

105

110

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

115

120

125

Pro Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130

135

140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Arg Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235

<210> 128

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v20 ECD

<400> 128

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

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

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Pro Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Arg Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 129

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v21 ECD

<400> 129

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110
Glu Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 130

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v22 ECD

<400> 130

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 131

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v23 ECD

<400> 131

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
 35 40 45
 Ile Pro Gln Asp Ser Pro Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
 50 55 60
 Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
 115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 132
 <211> 238
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v24 ECD

<400> 132

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Pro

195 200 205

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

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 133

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v25 ECD

<400> 133

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45
Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn

50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu

65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val His Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

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

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 134

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v26 ECD

<400> 134

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Ala Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235

<210> 135

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v27 ECD

<400> 135

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

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

 85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
 100 105 110
 Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125
 His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Thr Asn
 130 135 140
 Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205
 Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile

 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 136
 <211> 238
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v28 ECD
 <400> 136
 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30

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

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

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

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225 230 235

<210> 137

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v29 ECD

<400> 137

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Ser Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val His Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Ser Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235
<210> 138
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ICOSL v30 ECD
<400> 138
Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Gln Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125
His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190
Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Pro Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205
Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220
Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 139

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v31 ECD

<400> 139

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Gly Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

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

210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

225	230										235									
<210> 140																				
<211> 238																				
<212> PRT																				
<213> Artificial Sequence																				
<220><223> ICOSL v32 ECD																				
<400> 140																				
Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu																				
1	5				10					15										
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val																				
20					25					30										
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His																				
35					40					45										
Ile Pro Gln Asp Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn																				
50					55					60										
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu																				
65	70				75					80										
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu																				
85					90					95										
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val																				
100					105					110										
Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro																				
115					120					125										
His Ser Pro Ser His Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn																				
130				135					140											
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser																				
145				150					155					160						
Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg																				
165					170					175										
Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser																				
180					185					190										

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 141
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ICOSL v33 ECD
<400> 141

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Tyr Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

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

65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe Asp Cys Phe
85 90 95

Val Phe Ser Arg Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140
Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 142

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v34 ECD

<400> 142

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Tyr Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe Asp Cys Phe
85 90 95

Val Phe Ser Arg Ser Leu Glu Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val
100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Ser Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro
115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn
130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
165 170 175

Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
210 215 220

Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
225 230 235

<210> 143

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v1 ECD

<400> 143

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

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Val Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Val Pro Leu Ala Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Gly Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95
Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu
100 105 110

His Pro Gln Leu Gly
115

<210> 144

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v2 ECD

<400> 144

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

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Val Ala Ile

20 25 30
Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val

35 40 45
Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser

50 55 60
Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80
Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95
Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu
100 105 110

His Pro Gln Leu Gly
115

<210> 145

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v3 ECD

<400> 145

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

1 5 10 15

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val

35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Val Pro Leu Ala Ser

50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu

100 105 110

His Pro Gln Leu Gly

115

<210> 146

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v4 ECD

<400> 146

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

1 5 10 15

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val

35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Pro

50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu

100 105 110

His Pro Gln Leu Gly

115

<210> 147

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> NKp30 v5 ECD

<400> 147

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

1 5 10 15

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val

35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser

50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Gly Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val Val Glu Lys Glu

100 105 110

His Pro Gln Leu Gly

115

<210> 148

<211> 224

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 v1 ECD

<400> 148

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp His Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile Leu His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His His Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp

145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val

165 170 175

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

180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

210 215 220

<210> 149

<211> 224

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 v2 ECD

<400> 149

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp His Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp

145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val

165 170 175

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

180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

210 215 220
 <210> 150
 <211> 224
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD86 v3 ECD
 <400> 150
 Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

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

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

130 135 140
 Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val
 165 170 175
 Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr
 180 185 190

Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

210 215 220

<210> 151

<211> 224

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 v4 ECD

<400> 151

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His His Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp

145 150 155 160

Gly Val Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val

165 170 175
 Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro Asp Val Thr Ser Asn Met Thr
 180 185 190
 Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro
 195 200 205
 Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro Pro Pro Asp His Ile Pro
 210 215 220

<210> 152

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 WT IgV

<400> 152

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

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

<210> 153

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v1 IgV

<400> 153

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 154

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v4 IgV

<400> 154

Val Ile His Met Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 155

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v6 IgV

<400> 155

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Leu Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ser Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 156

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v7 IgV

<400> 156

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Pro Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 157

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v9 IgV

<400> 157

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 158

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v10 IgV

<400> 158

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Arg Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 159

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v11 IgV

<400> 159

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

<210

> 160

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v12 IgV

<400> 160

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

50 55 60

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

<210> 161

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v13 IgV

<400> 161

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Lys His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 162

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v14 IgV

<400> 162

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 163

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v15 IgV

<400> 163

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Glu Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 164

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v16 IgV

<400> 164

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Gly Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 165

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v17 IgV

<400> 165

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Glu Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Ser Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 166

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v19 IgV

<400> 166

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Glu Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 167

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v21 IgV

<400> 167

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Val Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

<210

> 168

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v22 IgV

<400> 168

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

50 55 60

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

<210> 169

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v23 IgV

<400> 169

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 170

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v24 IgV

<400> 170

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr His Ile Tyr Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 171

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v25 IgV

<400> 171

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile His Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Gly Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 172

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v26 IgV

<400> 172

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Ala Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 173

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v27 IgV

<400> 173

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu His Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Gly Ala Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 174

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v28 IgV

<400> 174

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr His Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Gly Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 175

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v30 IgV

<400> 175

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

<210

> 176

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v32 IgV

<400> 176

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

50 55 60

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

<210> 177

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v33 IgV

<400> 177

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 178

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v34 IgV

<400> 178

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Val Thr Leu Phe Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile His Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 179

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v35 IgV

<400> 179

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Phe Val Ile Arg Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Gly Lys Asp Gly Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 180

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v36 IgV

<400> 180

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Gly Pro Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

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

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 181

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v37 IgV

<400> 181

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Gly Leu Lys Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 182

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v38 IgV

<400> 182

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp

20 25 30

His Lys Glu Gly Lys Ile Val Leu Ala Met Arg Ser Gly Asp Thr Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 183

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v40 IgV

<400> 183

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Asp Ile Leu Trp

20 25 30

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

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

<210

> 184

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v41 IgV

<400> 184

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

50 55 60

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

<210> 185

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v43 IgV

<400> 185

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Arg Cys Val Val Ile Lys Tyr Glu Arg Leu Glu Asn Gln Gly Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 186

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v44 IgV

<400> 186

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 187

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD80 v45 IgV

<400> 187

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Arg Lys Gly Tyr Arg Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 188

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v47 IgV

<400> 188

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Gly Gln Ile Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Leu Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Val Cys Val Val Arg Lys Tyr Glu Asn Asp Thr Pro Val Leu Glu His

85

90

95

Leu Ala Gly Val Thr

100

<210> 189

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v48 IgV

<400> 189

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1

5

10

15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20

25

30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35

40

45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50

55

60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65

70

75

80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Asp Arg Lys Gly Tyr Arg Arg Glu His

85

90

95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 190

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v49 IgV

<400> 190

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Gly Gln Ile Val Met Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 191

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v50 IgV

<400> 191

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Gly Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

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

<210

> 192

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v51 IgV

<400> 192

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

50 55 60

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

<210> 193

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v52 IgV

<400> 193

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Thr Thr Leu Ser Cys

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

65 70 75 80
Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85 90 95
Leu Ala Glu Val Thr
100

<210> 194

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v53 IgV

<400> 194

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15
Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Val Ile Phe Trp

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

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210> 195

<211> 101

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 v54 IgV

<400> 195

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys

1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp

20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn

35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn

50 55 60

Leu Ser Ile Met Ile Pro Ala Pro Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr

65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Glu Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His

85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr

100

<210

> 196

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL WT IgV

<400> 196

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85

90

95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100

105

110

<210> 197

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v1 IgV

<400> 197

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1

5

10

15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20

25

30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85

90

95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100

105

110

<210> 198

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v2 IgV

<400> 198

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

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

<210> 199

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v3 IgV

<400> 199

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 200

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v4 IgV

<400> 200

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

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

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 201

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v5 IgV

<400> 201

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

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

 Val Leu Ser Pro Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
 100 105 110

 <210> 202
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v10 IgV
 <400> 202

 Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
 20 25 30
 Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
 35 40 45
 Ile Pro Gln His Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
 50 55 60
 Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
 65 70 75 80
 Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Arg Phe His Cys Leu
 85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 203

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v11 IgV

<400> 203

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Gly Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 204

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> ICOSL v12 IgV

<400> 204

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 205

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v13 IgV

<400> 205

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 206

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v14 IgV

<400> 206

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

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

<210> 207

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v22 IgV

<400> 207

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

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

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 208

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v23 IgV

<400> 208

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

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

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95
Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 209

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v24 IgV

<400> 209

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 210

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> ICOSL v28 IgV

<400> 210

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15
Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45
Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Pro
65 70 75 80
Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu
85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 211

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v30 IgV

<400> 211

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu

100 105 110

<210> 212

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v33 IgV

<400> 212

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

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

50 55 60
Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe Asp Cys Phe
85 90 95

Val Phe Ser Arg Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 213

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v34 IgV

<400> 213

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Ser Ser Ser Leu Glu Tyr Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn
50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu
65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe Asp Cys Phe
85 90 95

Val Phe Ser Arg Ser Leu Glu Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
100 105 110

<210> 214

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 WT IgC-like

<400> 214

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

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

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

<210> 215

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> NKp30 v1 IgC-like

<400> 215

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

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

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Gly Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val
100 105

<210> 216

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> NKp30 v2 IgC-like

<400> 216

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

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Val Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45

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

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val
100 105

<210> 217

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> NKp30 v3 IgC-like

<400> 217

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

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile
20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Val Pro Leu Ala Ser
50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val
100 105

<210> 218

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v4 IgC-like

<400> 218

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

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile
20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val
35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Pro
50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val
65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Ser Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly
85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val

100 105

<210> 219

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 v5 IgC-like

<400> 219

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

1 5 10 15

Ala Phe Leu Pro Cys Ser Phe Asn Ala Ser Gln Gly Arg Leu Ala Ile

20 25 30

Gly Ser Val Thr Trp Phe Arg Asp Glu Val Val Pro Gly Lys Glu Val

35 40 45

Arg Asn Gly Thr Pro Glu Phe Arg Gly Arg Leu Ala Pro Leu Ala Ser

50 55 60

Ser Arg Phe Leu His Asp His Gln Ala Glu Leu His Ile Arg Asp Val

65 70 75 80

Arg Gly His Asp Ala Gly Ile Tyr Val Cys Arg Val Glu Val Leu Gly

85 90 95

Leu Gly Val Gly Thr Gly Asn Gly Thr Arg Leu Val

100 105

<210> 220

<

211> 99

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 WT IgV

<400> 220

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val

20 25 30

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser
35 40 45

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

50 55 60

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

65 70 75 80

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser

85 90 95

Glu Leu Ser

<210> 221

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD86 v1 IgV

<400> 221

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp His Asp Gln Glu Asn Leu Val

20 25 30

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

35 40 45

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

50 55 60

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

65 70 75 80

Leu His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His His Met Asn Ser

85 90 95

Glu Leu Ser

<210> 222

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD86 v2 IgV

<400> 222

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp His Asp Gln Glu Asn Leu Val

20 25 30

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

35 40 45

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

50 55 60

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

65 70 75 80

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser

85 90 95

Glu Leu Ser

<210> 223

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD86 v3 IgV

<400> 223

Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val

20 25 30

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

35 40 45

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

50 55 60

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile
65 70 75 80
Leu His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser
85 90 95
Glu Leu Ser

<210> 224

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> CD86 v4 IgV

<400> 224

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

50 55 60

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile
65 70 75 80
His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His His Met Asn Ser
85 90 95
Glu Leu Ser

<210> 225

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> VH signal peptide

<400> 225

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

1 5 10 15

Val Ser Ala

<210> 226

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IgG1 Fc

<400> 226

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 180 185 190
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 195 200 205
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 210 215 220
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 227

<211> 235

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IgG2 Fc

<400> 227

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

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

115 120 125
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

130 135 140
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 145 150 155 160
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 165 170 175
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

180 185 190
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 195 200 205
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 210 215 220
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230 235

<210> 228

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> IgV-IgV linker

<400

> 228

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 229

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgV-Fc linker 1

<400> 229

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

<210> 230

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IgV-Fc linker 2

<400> 230

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala

1 5 10

<210> 231

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 WT linker 1

<400> 231

Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro

1 5 10 15

<210> 232

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD80 WT linker 2

<400> 232

Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn

1 5 10

<210> 233

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL WT linker 1

<400> 233

Val Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val

1 5 10

<210> 234

<211> 29

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL WT linker 2

<400> 234

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

1 5 10 15

Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

20 25

<210> 235

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKp30 WT linker 1

<400> 235

Val Glu Lys Glu His Pro Gln Leu Gly

1 5

<210> 236

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 WT linker 1

<400> 236

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe

1 5

<210> 237

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 WT linker 2

<400> 237

Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile Ser Asn Ile

1 5 10 15

Thr Glu

<210> 238

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD86 WT linker 3

<400> 238

Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln Pro

1 5 10 15

Pro Pro Asp His Ile Pro

20

<210> 239

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ICOSL v35 ECD

<400> 239

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Glu Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Asp Val Val Ser Val Leu Arg Ile Ala Arg Thr Pro Ser
 180 185 190
 Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu
 195 200 205

Thr Val Gly Ser Gln Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile
 210 215 220
 Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr
 225 230 235
 <210> 240
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ICOSL v35 IgV
 <400> 240

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
 1 5 10 15
 Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

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

85 90 95
 Val Leu Ser Gln Ser Leu Glu Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu
 100 105 110