(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0070496
(43) 공개일자 2024년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2851 (2013.01)
A61P 1/16 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7000140
(22) 출원일자(국제) 2022년06월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년01월03일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2022/102692
(87) 국제공개번호 WO 2023/274352
국제공개일자 2023년01월05일
(30) 우선권주장
PCT/CN2021/104201 2021년07월02일 중국(CN)

(71) 출원인
레크나 테라퓨틱스 상하이 씨오., 엘티디.
중국, 상하이 201203, 푸동, 장장, 987 채룬 로드, 5티에이치 플로어
(72) 발명자
루, 크리스 시앙양
중국 200232 상하이 쑤훼이 디스트릭트, 카이빈 로드 19, 15-502
구, 시앙-주 저스틴
중국 201210 상하이 푸둥, 추안허 로드, 10-1901
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
남호현

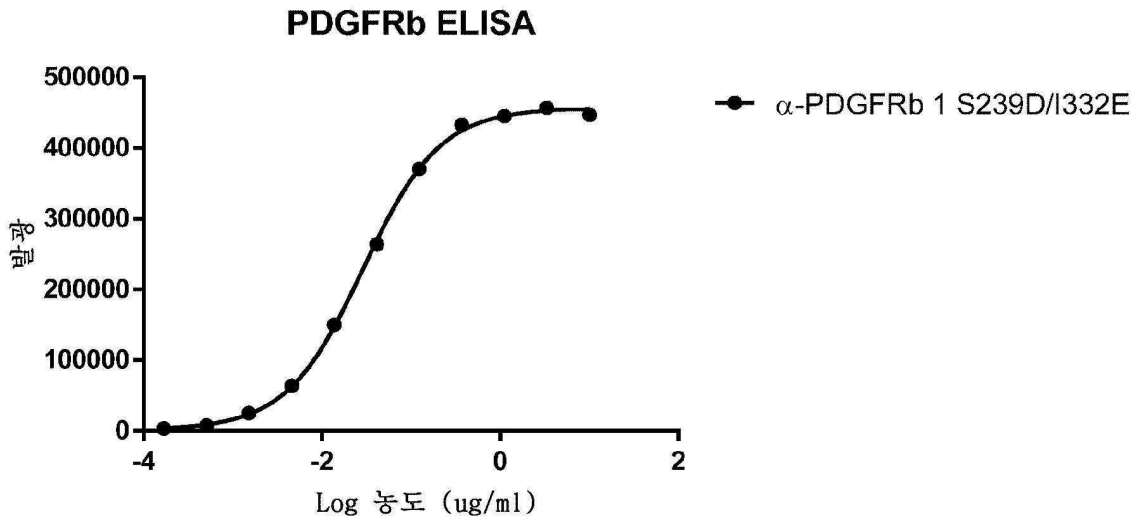
전체 청구항 수 : 총 78 항

(54) 발명의 명칭 **활성화된 간 성상세포(HSCS)의 고갈 및 이의 용도**

(57) 요 약

활성화된 간 성상 세포(HSC) 상에서 발현되는 항원에 결합하는 결합 도메인, 및 활성화된 HSC에 대한 항체 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 포함하는, 결합 분자. 그러한 결합 분자의 용도가 또한 본 명세서에 제공된다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
C07K 16/2863 (2013.01)
C07K 16/2896 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)

(72) 발명자
장, 민화
중국 201210 상하이 푸둥, 더춘 로드 99, 22-1202
장, 루이펑
중국 201317 상하이 푸둥, 항창 로드 376, 3-1404

명 세 서

청구범위

청구항 1

활성화된 간 성상 세포(HSC) 상에서 발현되는 하나 이상의 항원(들)에 결합하는 하나 이상의 결합 도메인(들), 및 활성화된 HSC에 대한 항체 이펙터 기능을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 포함하는 결합 분자로서,

선택적으로, 상기 항체 이펙터 기능은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)인, 결합 분자.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 기능성 도메인은

(i) ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역; 또는

(ii) 면역 세포를 활성화시키는 도메인 - 여기서, 선택적으로 상기 면역 세포는 NK 세포임 - 인, 결합 분자.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 상기 Fc 영역이고, 선택적으로 상기 Fc 영역의 하나 이상의 돌연변이(들)는 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재하는, 결합 분자.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함하는, 결합 분자.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 상기 면역 세포를 활성화시키는 도메인이고, 상기 기능성 도메인은 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제하는, 결합 분자.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절하고, 선택적으로 상기 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a로 이루어진 군으로부터 선택되는, 결합 분자.

청구항 7

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKG2D에 결합하는, 결합 분자.

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래되는, 결합 분자.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이고, 선택적으로 상기 기능성 도메인은 서열 번호 90 내지 93 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하는, 결합 분자.

청구항 10

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는, 결합 분자.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는 항체를 포함하는, 결합 분자.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 13

제12항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 14

제12항 또는 제13항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 15

제5항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TGFb에 결합하는, 결합 분자.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 상기 기능성 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하는, 결합 분자.

청구항 17

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TIGIT에 결합하는, 결합 분자.

청구항 18

제17항에 있어서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의

아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 21

제5항 또는 제6항에 있어서, 상기 기능성 도메인은 PVRIG에 결합하는, 결합 분자.

청구항 22

제21항에 있어서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 23

제22항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 24

제21항 또는 제22항에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 25

제5항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합 분자는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역을 추가로 포함하는, 결합 분자.

청구항 26

제25항에 있어서, 상기 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재하는, 결합 분자.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함하는, 결합 분자.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 HSC 상에서 발현되는 항원(들)은 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린,

ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2로 이루어진 군으로부터 선택되는, 결합 분자.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 PDGFRb인, 결합 분자.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 67에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 68에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 31

제30항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 33

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 SIRPA인, 결합 분자.

청구항 34

제33항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 69에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 70에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3;

(ii) 서열 번호 71에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 72에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

(iii) 서열 번호 73에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 74에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 35

제34항에 있어서,

(i) 상기 HCDR1은 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나;

(ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(iii) 상기 HCDR1은 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 24의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 36

제34항 또는 제35항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

(ii) 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(iii) 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 37

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 FAPα인, 결합 분자.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 75에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 76에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

(ii) 서열 번호 77에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 78에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 39

제38항에 있어서,

(i) 상기 HCDR1은 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(ii) 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 41

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 PD-L1인, 결합 분자.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 79에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 80에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 43

제42항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 44

제42항 또는 제43항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 45

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 uPAR인, 결합 분자.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 81에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 82에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 45의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 48의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 48

제46항 또는 제47항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 49

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 IGF-1R인, 결합 분자.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 83에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 84에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

(ii) 서열 번호 85에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 86에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 51

제50항에 있어서,

(i) 상기 HCDR1은 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 51의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 52의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 53의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 59의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 60의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 52

제50항 또는 제51항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(ii) 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 53

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 NKG2D 리간드이고, 선택적으로 상기 NKG2D 리간드는 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2인, 결합 분자.

청구항 54

제53항에 있어서, 상기 결합 도메인은 NKG2D 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 상기 결합 도메인은 서열 번호 89의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하는, 결합 분자.

청구항 55

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 ANTXR1인, 결합 분자.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 225에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 226에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

(ii) 서열 번호 233에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 234에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 57

제56항에 있어서,

(i) 상기 HCDR1은 서열 번호 227의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 228의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 229의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 230의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 231의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 236의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 237의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 58

제56항 또는 제57항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(ii) 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 59

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 CD248인, 결합 분자.

청구항 60

제59항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 241에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 242에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

(ii) 서열 번호 249에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 250에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 61

제60항에 있어서,

(i) 상기 HCDR1은 서열 번호 243의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 244의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 245의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 246의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 247의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 248의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

(ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 251의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 252의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 253의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 254의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 255의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 256의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 62

제60항 또는 제61항에 있어서, 상기 결합 도메인은

(i) 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

(ii) 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 63

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항원은 GPC3인, 결합 분자.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 257에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 258에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 259의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 260의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 261의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 262의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 263의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 264의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

청구항 66

제64항 또는 제65항에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

청구항 67

제1항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 결합 분자는 IgG 항체, 또는 상기 IgG 항체를 포함하는 융합 단백질인, 결합 분자.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체인, 결합 분자.

청구항 69

제1항 내지 제68항 중 어느 한 항의 결합 분자 또는 이의 단편을 인코딩하는 핵산 분자.

청구항 70

제69항의 핵산 분자를 포함하는 벡터.

청구항 71

제70항의 벡터로 형질전환된 숙주 세포.

청구항 72

치료적 유효량의 제1항 내지 제68항 중 어느 한 항의 결합 분자, 제69항의 핵산 분자, 또는 제70항의 벡터, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물.

청구항 73

대상체에서 질병 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 제72항의 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 활성화된 HSC와 관련된, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 간 섬유증인, 방법.

청구항 76

대상체에서 활성화된 HSC를 고갈시키는 방법으로서,

제72항의 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 77

제76항에 있어서, 상기 대상체는 활성화된 HSC와 관련된 질병 또는 장애를 갖는, 방법.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 간 섬유증인, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2021년 7월 2일자로 출원된 국제 특허 출원 PCT/CN2021/104201호의 우선권에 대한 이익을 주장하며, 이의 개시내용은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은, 2022년 6월 27일에 생성되었고 크기가 568,110 바이트인 파일명 "14668-006-228_SEQ_LISTING.txt"의 텍스트 파일로서 본 출원과 함께 제출된 서열 목록을 참고로 포함한다.

[0005] 기술분야

[0006] 활성화된 간 성상 세포(HSC)에 결합할 수 있는 분자, 이를 포함하는 약제학적 조성물, 및 이의 용도가 본 명세서에 제공된다.

배 경 기 술

[0007] 활성화된 간 성상 세포(HSC)는 간 손상 시에 섬유생성(fibrogenesis)을 매개하는 세포의 주요 유형이다. 활성화된 HSC를 표적화하는 치료적 접근법은 섬유증 형성을 늦추거나 예방하고 간 섬유증 또는 간경변증을 가진 환자에서 삶의 질을 개선하는 데 매우 필요하다. 본 발명은 이러한 요구 및 당업계에서의 다른 요구에 대처한다.

발명의 내용

[0008] 일 태양에서, 활성화된 간 성상 세포(HSC) 상에서 발현되는 하나 이상의 항원(들)에 결합하는 하나 이상의 결합 도메인(들), 및 활성화된 HSC에 대한 항체 이펙터 기능을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 포함하는 결합 분

자가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체 이펙터 기능은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역이다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포는 NK 세포이다.

[0009] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역이다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역의 하나 이상의 돌연변이(들)는 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0010] 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 도메인이고, 기능성 도메인은 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제한다.

[0011] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 수용체를 조절한다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 억제하는 수용체를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0012] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이고, 선택적으로 기능성 도메인은 서열 번호 90 내지 93 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다.

[0013] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0014] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 기능성 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다.

[0015] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미

노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0016] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0017] 일부 실시 형태에서, 전술된 면역 세포를 활성화시키는 기능성 도메인에 추가하여, 결합 분자는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0018] 일부 실시 형태에서, HSC 상에서 발현되는 항원은 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0019] 일부 실시 형태에서, 항원은 PDGFRb이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 67에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 68에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0020] 일부 실시 형태에서, 항원은 SIRPA이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 69에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 70에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; (ii) 서열 번호 71에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 72에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (iii) 서열 번호 73에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 74에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, (i) HCDR1은 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나; (ii) HCDR1은 서열 번호 13의 아미노산 서열을 포함

하고, HCDR2는 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (iii) HCDR1은 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL; (ii) 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (iii) 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0021] 일부 실시 형태에서, 항원은 FAPα이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 75에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 76에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (ii) 서열 번호 77에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 78에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, (i) HCDR1은 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (ii) HCDR1은 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (ii) 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0022] 일부 실시 형태에서, 항원은 PD-L1이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 79에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 80에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 37의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0023] 일부 실시 형태에서, 항원은 uPAR이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 81에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 82에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 45의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 48의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0024] 일부 실시 형태에서, 항원은 IGF-1R이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 83에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 84에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (ii) 서열 번호 85에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 86에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, (i) HCDR1은 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 51의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 52의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 53의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (ii) HCDR1은 서열 번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 57의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 59의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 60의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (ii) 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0025] 일부 실시 형태에서, 항원은 ANTXR1이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 225에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 226에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (ii)

서열 번호 233에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 234에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, (i) HCDR1은 서열 번호 227의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 228의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 229의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 230의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 231의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (ii) HCDR1은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 236의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 237의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (ii) 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 234의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0026] 일부 실시 형태에서, 항원은 CD248이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 241에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 242에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (ii) 서열 번호 249에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 250에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, (i) HCDR1은 서열 번호 243의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 244의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 245의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 246의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 247의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 248의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 (ii) HCDR1은 서열 번호 251의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 252의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 253의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 254의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 255의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 256의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (i) 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는 (ii) 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0027] 일부 실시 형태에서, 항원은 GPC3이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 257에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 258에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 259의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 260의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 261의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 262의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 263의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 264의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0028] 일부 실시 형태에서, 항원은 NKG2D 리간드, 예컨대 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2이다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 NKG2D 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 결합 도메인은 서열 번호 89의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다.

[0029] 일부 실시 형태에서, 결합 분자는 IgG 항체, 또는 IgG 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 인간화 항체이다.

[0030] 다른 태양에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자 또는 이의 단편을 인코딩하는 핵산 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0031] 다른 태양에서, 본 명세서에 제공된 핵산 분자를 포함하는 벡터가 본 명세서에 제공된다.

[0032] 다른 태양에서, 본 명세서에 제공된 벡터로 형질전환된 숙주 세포가 본 명세서에 제공된다.

[0033] 다른 태양에서, 치료적 유효량의 본 명세서에 제공된 결합 분자, 핵산 분자, 또는 벡터, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물이 본 명세서에 제공된다.

[0034] 또 다른 태양에서, 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 제공된 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 활성화된 HSC와 관련되어 있다. 일부 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 간 섬유증이다.

[0035] 또 다른 태양에서, 대상체에서 활성화된 HSC를 고갈시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 제공된 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 대상체는 활성화된 HSC와 관련된 질병 또는 장애를 갖는다. 일부 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 간 섬유증이다.

도면의 간단한 설명

[0036] **도 1a 내지 도 1j**는 ELISA에 의해 측정된 각각의 항원에 대한 항체 또는 재조합 융합 단백질의 용량 의존적 결합을 나타낸다. (**도 1a**) 인간 PDGFRb ECD에 대한 α-PDGFRb 1 S239D/I332E 결합; (**도 1b**) 인간 ULBP1 ECD에 대한 NKG2D-hIgG1 Fc S239D/I332E 결합; (**도 1c**) 인간 SIRPA ECD에 대한 α-SIRPA 1 S239D/I332E, α-SIRPA 2 S239D/I332E, 및 α-SIRPA 3 S239D/I332E 결합; (**도 1d**) 인간 FAPa ECD에 대한 α-FAPa 1 S239D/I332E 결합; (**도 1e**) 인간 uPAR ECD에 대한 α-uPAR 1 S239D/I332E 결합; (**도 1f**) 인간 IGF-1R ECD에 대한 α-IGF1R 1 S239D/I332E 및 α-IGF1R 2 S239D/I332E 결합; (**도 1g**) 인간 PD-L1 ECD에 대한 α-PDL1 1 S239D/I332E 결합. (**도 1h**) 인간 GPC3 ECD에 대한 α-GPC3 1 mIgG2a S239D/I332E 결합. (**도 1i**) 인간 ANTXR1 ECD에 대한 α-ANTXR1 1 mIgG2a S239D/I332E 및 α-ANTXR1 2 mIgG2a S239D/I332E 결합. (**도 1j**) 인간 CD248 ECD에 대한 α-CD248 1 mIgG2a S239D/I332E 및 α-CD248 2 mIgG2a S239D/I332E 결합.

도 2a 내지 도 2f는 인간 TGFb1-활성화된 1차 인간 HSC 세포 상에서의 항원의 표면 발현 수준을 나타낸다. (**도 2a**) 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E, α-SIRPA 2 S239D/I332E 및 α-FAPa 2 WT FACS 결합의 평균 형광 강도; (**도 2b**) 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E, α-uPAR 1 S239D/I332E, α-IGF1R 1 S239D/I332E 및 α-IGF1R 2 S239D/I332E FACS 결합의 평균 형광 강도; (**도 2c**) 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E, α-PDL1 1 S239D/I332E FACS 결합의 평균 형광 강도; (**도 2d**) 10 ug/ml의 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E FACS 결합의 평균 형광 강도. (**도 2e**) 10 ug/ml의 α-GPC3 1 mIgG2a S239D/I332E, α-CD248 1 mIgG2a S239D/I332E 및 α-CD248 2 mIgG2a S239D/I332E FACS 결합의 평균 형광 강도. (**도 2f**) 10 ug/ml의 α-ANTXR1 1 mIgG2a S239D/I332E 및 α-ANTXR1 2 mIgG2a S239D/I332E FACS 결합의 평균 형광 강도.

도 3a 내지 도 3g는 시험 항체 또는 단백질이 TGFb1-활성화된 1차 인간 HSC 세포에 대한 1차 NK 세포 또는 PBMC 세포의 세포독성 활성을 증가시켰음을 나타낸다. 데이터는 평균 ± SD(n=3/군)로 제시되어 있다: (**도 3a**) α-PDGFRb 1 S239D/I332E에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1); (**도 3b**) 10 ug/ml의 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E 및 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E에 의해 유도된 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1); (**도 3c**) α-SIRPA 1 S239D/I332E, α-SIRPA 2 S239D/I332E 및 α-SIRPA 3 S239D/I332E에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1); (**도 3d**) α-FAPa 1 S239D/I332E에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1); (**도 3e**) α-uPAR 1 S239D/I332E, α-IGF1R 1 S239D/I332E, 및 α-IGF1R 2 S239D/I332E에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 PBMC:HSC 세포 = 50:1). 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E를 본 검정의 양성 대조군으로서 사용하였음; (**도 3f**) α-PD-L1 1 S239D/I332E에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1). 10 ug/ml의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E를 본 검정의 양성 대조군으로서 사용하였음; (**도 3g**) 시험 항체는 TGFb1-활성화된 1차 인간 HSC 세포에 대한 1차 인간 PBMC 세포의 세포독성 활성을 증가시켰다(1차 PBMC:HSC 세포 = 25:1). α-SIRPA 2 mIgG2a S239D/I332E를 양성 대조군으로서 사용하였다. 마우스 IgG2a 동종형(isotype) 대조군을 음성 대조군으로서 사용하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=2/군)로 제시되어 있다.

도 4a 내지 도 4c는 Fc 영역의 이펙터 기능이, 항체 또는 단백질이 TGFb1-활성화된 인간 1차 HSC 세포에 대해 ADCC 세포독성을 발휘하는 데 중요하였음을 나타낸다. 데이터는 평균 ± SD(n=2 또는 3/군)로서 제시되어 있다: (**도 4a**) 상이한 Fc 돌연변이를 갖는 α-SIRPA 2에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 PBMC:HSC 세포 = 50:1). 이펙터 기능 향상 돌연변이(S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, F243L/R292P/Y300L)는 ADCC 세포독성을 증가시킨 반면, 이펙터 기능 침묵 돌연변이(L234A/L235A)는 ADCC 세포독성을 소실시켰다. WT: 야생형; (**도 4b**) 상이한 Fc 돌연변이를 갖는 α-PDGFRb 1에 의해 유도된 용량 의존적 세포독성(1차 NK:HSC 세포 = 4:1). S239D/I332E 돌연변이를 갖는 항체는 NK/HSC 공동배양에서 1차 HSC 세포에 대해 세포독성을 용량 의존적으로 유도하였다. N297S 돌연변이는 ADCC 효과를 완전히 소실시켰다. (**도 4c**) 10 ug/ml의 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E는 10 ug/ml의 NKG2D hIgG1 Fc L234A/L235A보다 더 많은 세포독성을 유도하였다(1차 PBMC:HSC 세포 = 30:1).

도 5는 CCL4-처리된 C57BL/6J 마우스에서의 1B3-TRII의 단회 용량 후의 간에서의 총 PDGFRb 수준의 감소가 Fc 이펙터 기능에 의존적이었음을 나타낸다. 100 ug 총 단백질의 간 용해물을 겔 상에 로딩하였다. 총 PDGFRb를 항-PDGFRb 항체(abcam Ab32570)를 사용하여 블로팅하였다. 알파-튜불린을 로딩 대조군(Beyotime, AF0001)으로서 블로팅하였다. 1B3-TRII S239D/I332E 처리는 총 PDGFRb 단백질 수준을 감소시킨 반면, 1B3-TRII L234A/L235A 처리는 그렇지 않았다. 1B3-TRII: 인간 TGFb 수용체 II ECD가 중쇄 C-말단에 연결된 항-마우스 PDGFRb 항체 1B3;

도 6은 CCL4-처리된 C57BL/6J 마우스에서 1B3-TRII S239D/I332E 또는 1B3-TRII L234A/L235A의 단회 용량 후의 간에서의 비견되는 항체 농도를 나타낸다. 항체 농도를 ELISA에 의해 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=3/군)로 제시되어 있다. 1B3-TRII: 인간 TGFb 수용체 II ECD가 중쇄 C-말단에 연결된 항-마우스 PDGFRb 항체 1B3;

도 7은 CCL4-처리된 C57BL/6J 마우스에서 1B3-TRII S239D/I332E 및 1B3-TRII L234A/L235A의 다회 용량 후의 혈청에서의 비견되는 항체 농도를 나타낸다. 투여 시작 후 일수 9 및 일수 27에서 혈청 항체 농도를 측정하였다. 항체 농도를 직접 ELISA에 의해 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=8 내지 10/군)로 제시되어 있다.

도 8a 내지 도 8c는 이중특이성 항체 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E가 α-PDGFRb 1 S239D/I332E 또는 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E와 대비하여 TGFb1-활성화된 HSC 세포에 대해 세포독성을 추가로 증가시켰음을 나타낸다. (**도 8a**) α-PDGFRb 1 S239D/I332E 및 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E는 ELISA에 의해 측정될 때 인간 PDGFRb ECD에 용량 의존적으로 결합함; (**도 8b**) NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E 및 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E는 ELISA에 의해 측정될 때 인간 MICA ECD에 용량 의존적으로 결합함; (**도 8c**) α-PDGFRb 1 S239D/I332E, NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E 또는 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E 처리에 의해 세포독성이 용량 의존적으로 유도되었다(1차 PBMC:aHSC 세포 = 25:1). α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E는 α-PDGFRb 1 S239D/I332E 또는 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E 중 어느 것과 대비해도 더 많은 최대 세포독성을 유도하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=2/군)로 제시되어 있다.

도 9는 α-PDGFRb 1 중쇄의 N-말단에 대한 ULBP2의 융합이 TGFb1-활성화된 인간 1차 HSC 세포에 대한 1차 PBMC 세포의 세포독성 활성을 증가시켰음을 나타낸다. 1차 PBMC와 활성화된 HSC 세포의 공동배양(1차 PBMC:HSC 세포 = 30:1)을 10 ug/ml의 ULBP2-HC α-PDGFRb 1 L234A/L235A 또는 α-PDGFRb 1 L234A/L235A로 처리하였다. hIgG1 동종형 대조군을 음성 대조군으로서 사용하였다. HSC 세포에 대한 세포독성은 LDH 방출을 사용하여 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=3/군)로 제시되어 있다. 일원분산분석(one way ANOVA), 이어서 α-PDGFRb 1 L234A/L235A 군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(*p<0.05).

도 10은 α-PDGFRb 1에 대한 α-NKp46 1의 융합이 TGFb1-활성화된 HSC 세포에 대한 1차 NK 세포의 세포독성 활성을 추가로 증가시켰음을 나타낸다. 1차 NK 세포와 활성화된 HSC 세포의 공동배양물(1차 NK:HSC 세포 = 4:1)을 다양한 농도의 α-PDGFRb 1-α-NKp46 1 S239D/I332E, α-PDGFRb 1-α-NKp46 1 N297S, α-PDGFRb 1-NA S239D/I332E, α-PDGFRb 1-NA N297S로 처리하였다. HSC 세포에 대한 세포독성은 LDH 방출을 사용하여 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=2/군)로 제시되어 있다.

도 11a 내지 도 11d는 α-TIGIT1 IgG1이 TGFb1-활성화된 HSC 세포에 대한 1차 NK 세포의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E-유도된 ADCC 세포독성을 추가로 향상시켰음을 나타낸다. (**도 11a**) 2 ng/ml의 TGFb1로 처리되거나 이의 처리를 갖지 않은 HSC 세포에 대한 항-CD155-BV421(Biolegend, 337631) 및 동종형 대조군-BV421(BD Biosciences, 562438) FACS 결합의 평균 형광 강도. (**도 11b**) 2 ng/ml의 TGFb1로 처리되거나 이의 처리를 갖지 않은 HSC 세포에 대한 항-CD112-APC(Biolegend, 337412) 및 동종형 대조군-APC(BD Pharmingen, 555751) FACS 결합의 평균 형광 강도. (**도 11c**) 인간 IgG4 동종형 대조군과 대비하여 3 ug/ml의 α-TIGIT IgG1 또는 α-PVRIG IgG4 처리에 의해, 활성화된 HSC에 대한 세포독성이 유도되었다(1차 NK:HSC 세포 = 8:1). (**도 11d**) 3 ug/ml의 α-TIGIT IgG1은 활성화된 HSC 세포에 대해 α-PDGFRb 1 S239D/I332E에 의해 유도된 세포독성을 추가로 증가시켰다(1차 PBMC: HSC 세포 = 25:1). 데이터는 평균 ± SD(n=2/군)로 제시되어 있다.

도 12a 내지 도 12c는 TGFb 수용체 II ECD(TRII)에 의한 TGFb 신호전달을 차단함으로써, 활성화된 HSC 세포에 대한 항-PDGFRb 항체-유도 세포독성을 향상시켰음을 나타낸다. (**도 12a**) α-PDGFRb 1 TRII S239D/I332E는 α-PDGFRb 1 S239D/I332E 단독과 대비하여 유사한 ADCC 효과를 가졌다. 1차 NK 세포와 활성화된 HSC 세포의 공동배양물(1차 NK:HSC 세포 = 4:1)을 다양한 농도의 α-PDGFRb 1 TRII S239D/I332E 또는 α-PDGFRb 1 S239D/I332E로 처리하였다. HSC 세포에 대한 세포독성은 LDH 방출을 사용하여 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=2/군)로 제시되어 있다. (**도 12b**) CCL4-처리된 C57BL/6J 마우스에서의 1B3-TRII S239D/I332E, 1B3 S239D/I332E 또는 1B3 WT의 다회 용량 후의 혈청 항체 농도. 항체 농도를 직접 ELISA에 의해 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=8 내지 10/군)로 제시되어 있다. (**도 12c**) 1B3 TRII S239D/I332E 처리는 1B3 S239D/I332E 처리보다 더 많은 간의 총 PDGFRb 단백질 감소를 야기하였다. 간의 총 PDGFRb 단백질 수준을 샌드위치 ELISA에 의해 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=5 내지 10/군)로 제시되어 있다. 일원분산분석, 이어서 동형형 대조군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(*p<0.05 ***p<0.001; ****p<0.0001). 1B3-TRII SI 군 및 1B3-SI 군에 대한 데이터를 독립표본 t-검정(un-paired t-test)에 의해 분석하였다(*p<0.05). 1B3: 항-마우스 PDGFRb

항체; 1B3-TRII: 인간 TRII가 중쇄 C-말단에 연결된 항-마우스 PDGFRb 항체 1B3; ISO-TRII: 인간 TRII가 중쇄 C-말단에 연결된 동종형 대조 항체.

도 13a 내지 도 13f는 1B3 S239D/I332E의 단회 용량 처리가 CCL4-병변 C57BL/6J 마우스에서 HSC 마커 발현을 감소시켰음을 나타낸다. (**도 13a**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후에 간 PDGFRb 단백질 수준이 감소되었다. (**도 13b**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후에 간 aSMA 단백질 수준이 감소되었다. (**도 13c**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 4시간 시점에서 간 aSMA mRNA 수준이 감소되었다. (**도 13d**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 간 GFAP mRNA 수준이 유의하게 변하지 않았다. (도 13e) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 4시간 시점에서 간 Desmin mRNA 수준이 감소되었다. (도 13f) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 간 LRAT mRNA 수준이 유의하게 변하지 않았다. 데이터는 평균 ± SD(n=3/군)로 제시되어 있다. 이원분산분석(two way ANOVA), 이어서 PBS 군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001).

도 14a 내지 도 14f는 1B3 S239D/I332E의 단회 용량 처리가 CCL4-병변 C57BL/6J 마우스에서 NK/면역 세포 활성화 마커 발현 - 이는 간에서 아폽토시스 세포의 수준과 상관관계가 있음 - 을 증가시켰음을 나타낸다. (**도 14a**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 48시간 시점에서 간 NKG2D mRNA 수준이 증가되었다. (**도 14b**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 48시간 시점에서 간 NKp46 mRNA 수준이 증가되었다. (**도 14c**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 48시간 시점에서 간 그랜자임 B mRNA 수준이 증가되었다. (**도 14d**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 % 간 그랜자임 B 강양성(strong positive) 세포가 증가되었다. (**도 14e**) 1B3 S239D/I332E 처리의 단회 용량 후 간에서의 % 절단된 카스파제 3 양성 세포가 4시간 시점에서 감소되고, 48시간 시점에서 증가되었다. 데이터는 평균 ± SD(n=3/군)로 제시되어 있다. 이원분산분석, 이어서 PBS 군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ****p<0.0001). (**도 14f**) 1B3 S239D/I332E 처리 후 간에서의 % 절단된 카스파제 3 양성 세포와 간에서의 % 간 그랜자임 B 강양성 세포 사이의 유의한 상관관계. 선형 회귀를 사용하여 데이터를 생성하였다(p=0.0016).

도 15a 및 도 15b는 Sirius Red 염색에 의해 측정된 바와 같은 간 섬유증이 CCL4-병변 마우스에서 1B3-TRII S239D/I332E 및 1B3-S239D/I332E 처리에 의해 감소되었음을 나타낸다. (**도 15a**) 간 절편을 Sirius Red로 염색하였다. Sirius Red 염색 양성 면적의 백분율을 소프트웨어 HALO에 의해 정량화하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=5 내지 10/군)로 제시되어 있다. 일원분산분석, 이어서 동형형 대조군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(*p<0.05; **p<0.01). 1B3: 항-마우스 PDGFRb 항체; 1B3-TRII: 인간 TRII가 중쇄 C-말단에 연결된 항-마우스 PDGFRb 항체 1B3; ISO-TRII: 인간 TRII가 중쇄 C-말단에 연결된 동종형 대조 항체. (**도 15b**) 총 PDGFRb 단백질 수준(ELISA에 의한 OD450)과 Sirius Red 염색 양성 면적의 백분율 사이의 양의 상관관계. 선형 회귀를 사용하여 데이터를 생성하였다(p<0.0001).

도 16a 및 도 16b는 혈청에서의 항체 농도가 CDAA 식이-처리된 C57BL/6J 마우스에서 1B3 S239D/I332E와 대비하여 1B3 WT의 다회 용량 후에 더 높았음을 나타낸다. 투여 시작 후 일수 23(**도 16a**) 및 일수 42(**도 16b**)에서 혈청 항체 농도를 측정하였다. 항체 농도를 직접 ELISA에 의해 결정하였다. 데이터는 평균 ± SD(n=8/군)로 제시되어 있다.

도 17a 내지 도 17e는 1B3 WT 및 1B3 S239D/I332E의 처리가 C57BL/6J 마우스에서 간의 총 PDGFRb 수준의 감소(**도 17a**), CDAA 식이-유도 ALT 증가(**도 17b**), AST 증가(**도 17c**), 및 간에서의 % 지질 소적 증가(**도 17d**)를 가져왔음을 나타낸다. 단지 1B3 S239D/I332E의 처리만이 간에서 % Sirius Red 양성 영역으로서 측정된 CDAA 식이-유도 간 섬유증을 감소시켰다(**도 17e**). 데이터는 평균 ± SD(n=8/군)로 제시되어 있다. 일원분산분석, 이어서 PBS 군 대비 다중 비교를 사용하여 데이터를 분석하였다(**p<0.01, ***p<0.001).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 발명은 ADCC 향상 특성을 갖는 모이어티(moiety)로 조작된 항체가 간 섬유증과 같은 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애를 치료하는 데 우수한 효과를 보여준다는 놀라운 발견에 부분적으로 기초한다.

[0038] 5.1.정의

[0039] 본 명세서에 기재되거나 언급된 기법 및 절차는, 예를 들어, 문헌[Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3d ed. 2001)]; 문헌[Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.* eds., 2003)]; 문헌[Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed. 2009)]; 문헌[Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols (Albitar ed. 2010)]; 및 문헌[Antibody Engineering Vols 1 and 2

(Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)]에 기재된 광범위하게 이용되는 방법론과 같은, 일반적으로 당업자에 의해 잘 이해되고/되거나 통상적인 방법을 사용하여 일반적으로 사용되는 것들을 포함한다. 본 명세서에 달리 정의되지 않는 한, 상세한 설명에 사용된 기술 용어 및 과학 용어는 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 본 명세서를 해석하려는 목적으로, 하기의 용어 설명이 적용될 것이며, 적절한 경우에는 언제든지, 단수로 사용되는 용어는 또한 복수형을 포함할 것이고, 역으로도 성립할 것이다. 제시된 용어의 임의의 설명이 본 명세서에 참고로 포함된 임의의 문헌과 상충되는 경우에는, 하기에 제시된 용어의 설명이 우선할 것이다.

[0040] 용어 "항체", "면역글로불린", 또는 "Ig"는 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되며, 가장 넓은 의미로 사용되고, 하기 기재된 바와 같이 2개 이상의 온전한 항체로부터 형성된, 예를 들어, 단일클론 항체(효능제(agonist), 길항제, 중화 항체, 전장(full length) 또는 온전한 단일클론 항체를 포함함), 폴리에피토프 또는 모노에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 다중클론 또는 1가 항체, 다가 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이중특이성 항체), 단일쇄 항체, 및 이의 단편(예를 들어, 도메인 항체)을 구체적으로 망라한다. 항체는 인간, 인간화, 키메라, 및/또는 친화성 성숙될 수 있을 뿐만 아니라 다른 종, 예를 들어 마우스, 래트, 라마 등으로부터의 항체일 수 있다. 용어 "항체"는 특이적 분자 항원에 결합할 수 있고 2개의 동일한 폴리펩티드 사슬의 쌍으로 구성된 폴리펩티드의 면역글로불린 부류 내의 B 세포의 폴리펩티드 생성물을 포함하도록 의도되며, 여기서 각각의 쌍은 하나의 중쇄(약 50 내지 70 kDa) 및 하나의 경쇄(약 25 kDa)를 갖고, 각각의 사슬의 각각의 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 130개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하며, 각각의 사슬의 각각의 카르복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995)]; 및 문헌[Kuby, Immunology (3d ed. 1997)]을 참조한다. 항체는 또한 합성 항체, 재조합적으로 생성된 항체, 낙타과 종(Camelidae species)(예를 들어, 라마 또는 알파카)으로부터의 항체 또는 이들의 인간화 변이체, 인트라바디, 및 항-이디오타입(항-Id) 항체, 및 상기 중 임의의 것의 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편) - 이는 단편의 유래가 된 항체의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지하는 항체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드의 일부분을 지칭함 - 을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)의 비제한적인 예는 단일-사슬 Fv(scFv)(예를 들어, 단일특이성, 이중특이성 등을 포함함), Fab 단편, F(ab') 단편, $F(ab)_2$ 단편, $F(ab')_2$ 단편, 다이설파이드-연결된 Fv(dsFv), Fd 단편, Fv 단편, 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디, 및 미니바디를 포함한다. 특히, 본 명세서에 제공된 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어, 항원에 결합하는 항원-결합 부위를 함유하는 항원-결합 도메인 또는 분자(예를 들어, 항체의 하나 이상의 CDR)를 포함한다. 그러한 항체 단편은, 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989)]; 문헌[Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers, ed., 1995)]; 문헌[Huston, *et al.*, 1993, *Cell Biophysics* 22:189-224]; 문헌[Plückthun and Skerra, 1989, *Meth. Enzymol.* 178:497-515]; 및 문헌[Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990)]에서 확인할 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 임의의 부류(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA), 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2)의 면역글로불린 분자일 수 있다. 항체는 효능적 항체 또는 길항적 항체일 수 있다. 항체는 효능적 항체 또는 길항적 항체 어느 것도 아닐 수 있다.

[0041] "항원"은 항체가 선택적으로 결합할 수 있는 구조이다. 표적 항원은 폴리펩티드, 탄수화물, 핵산, 지질, 합텐, 또는 다른 자연 발생 또는 합성 화합물일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 표적 항원은 폴리펩티드이다. 소정 실시 형태에서, 항원은 세포와 회합되며, 예를 들어, 세포 상에 또는 세포 내에 존재한다.

[0042] "온전한" 항체는 항원-결합 부위뿐만 아니라 CL 및 적어도 중쇄 불변 영역, CH1, CH2, 및 CH3을 포함하는 것이다. 불변 영역은 인간 불변 영역 또는 이의 아미노산 서열 변이체를 포함할 수 있다. 소정 실시 형태에서, 온전한 항체는 하나 이상의 이펙터 기능을 갖는다.

[0043] 용어 "결합한다" 또는 "결합하는"은, 예를 들어 복합체를 형성하는 것을 포함한 분자들 사이의 상호작용을 지칭한다. 상호작용은, 예를 들어 비공유 상호작용일 수 있으며, 이에는 수소 결합, 이온 결합, 소수성 상호작용, 및/또는 반데르 발스 상호작용이 포함된다. 복합체는 또한 공유 또는 비공유 결합, 상호작용, 또는 힘에 의해 함께 유지된 2개 이상의 분자의 결합을 포함할 수 있다. 항체 상의 단일 항원-결합 부위와 표적 분자, 예컨대 항원의 단일 에피토프 사이의 총 비공유 상호작용의 강도는 그 에피토프에 대한 항체 또는 기능성 단편의 친화도이다. 1가 항원에 대한 결합 분자(예를 들어, 항체)의 해리 속도(k_{off}) 대 결합 속도(k_{on})의 비(k_{off}/k_{on})는 해리 상수 K_D이며, 이는 친화도와 역상관된다. K_D 값이 낮을수록, 항체의 친화도는 더 높다. K_D의 값은 항체와

항원의 상이한 복합체들에 대해 달라지며, k_{on} 및 k_{off} 둘 모두에 좌우된다. 본 명세서에 제공된 항체에 대한 해리 상수 K_D는 본 명세서에 제공된 임의의 방법 또는 당업자에게 잘 알려진 임의의 다른 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 하나의 결합 부위에서의 친화도는 항체와 항원 사이의 상호작용의 진정한 강도(true strength)를 항상 반영하는 것은 아니다. 다수의 반복되는 항원 결정기를 함유하는 복합 항원, 예컨대 다가 항원이 다수의 결합 부위를 함유하는 항체와 접촉되는 경우, 하나의 부위에서의 항원과 항체의 상호작용은 제2 부위에서의 반응의 확률을 증가시킬 것이다. 다가 항체와 항원 사이의 그러한 다수의 상호작용의 강도를 결합력(avidity)이라 칭한다.

[0044] 본 명세서에 기재된 결합 분자와 관련하여, "~에 결합하다", "~에 특이적으로 결합하는"과 같은 용어, 및 유사한 용어는 또한 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되며, 항원에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인의 결합 분자, 예컨대 폴리펩티드를 지칭한다. 항원에 결합하거나 특이적으로 결합하는 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은, 예를 들어 면역검정, Octet®, Biacore®, 또는 당업자에게 알려진 다른 기법에 의해 확인될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 방사면역검정(RIA) 및 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)과 같은 실험 기법을 사용하여 결정될 때 임의의 교차-반응성 항원보다 더 높은 친화도로 항원에 결합하는 경우에, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 항원에 결합하거나 특이적으로 결합한다. 전형적으로, 특이적이거나 선택적인 반응은 백그라운드 신호 또는 노이즈의 적어도 2배일 것이며 백그라운드의 10배 초과일 수 있다. 결합 특이성에 관한 논의에 대해서는, 예를 들어 문헌[Fundamental Immunology 332-36 (Paul, ed., 2d ed. 1989)]을 참조한다. 소정 실시 형태에서, 예를 들어 형광 활성화 세포 분류(FACS) 분석 또는 RIA에 의해 결정될 때, "비표적" 단백질에 대한 결합 분자 또는 항원-결합 도메인의 결합의 정도는 그의 특정 표적 항원에 대한 결합 분자 또는 항원-결합 도메인의 결합의 약 10% 미만이다. 예를 들어, 항원에 결합하는 결합 분자 또는 항원-결합 도메인에는, 결합 분자가, 예를 들어 항원을 표적화하는 데 치료제 및/또는 진단제로서 유용하도록 충분한 친화도로 항원에 결합할 수 있는 것이 포함된다. 소정 실시 형태에서, 항원에 결합하는 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 1 μM, 800 nM, 600 nM, 550 nM, 500 nM, 300 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0.9 nM, 0.8 nM, 0.7 nM, 0.6 nM, 0.5 nM, 0.4 nM, 0.3 nM, 0.2 nM, 또는 0.1 nM 이하의 해리 상수(K_D)를 갖는다. 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 상이한 종으로부터의 항원간에 보존되는 항원의 에피토프에 결합한다.

[0045] 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 "키메라" 서열을 포함할 수 있는데, 여기서는 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분은 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동인 반면, 사슬(들)의 나머지 부분은, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 다른 종으로부터 유래되거나 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 항체뿐만 아니라, 그러한 항체의 단편 내의 상응하는 서열과 동일하거나 상동이다(미국 특허 제4,816,567호 및 문헌[Morrison *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-55] 참조). 키메라 서열은 인간화 서열을 포함할 수 있다.

[0046] 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은, 천연 CDR 잔기가, 원하는 특이성, 친화도, 및 능력(capacity)을 갖는 낙타과, 마우스, 래트, 토끼, 또는 비인간 영장류와 같은 비인간 종의 상응하는 CDR(예를 들어, 공여자 항체)로부터의 잔기로 대체된 인간 면역글로불린(예를 들어, 수용자 항체)로부터의 서열을 포함하는 비인간(예를 들어, 낙타과, 뮤린, 비인간 영장류) 항체의 "인간화" 형태의 부분을 포함할 수 있다. 일부 경우에는, 인간 면역글로불린 서열의 하나 이상의 FR 영역 잔기가 상응하는 비인간 잔기로 대체된다. 더욱이, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서는 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 개선하도록 이루어진다. 인간화 항체의 중쇄 또는 경쇄는 적어도 하나 이상의 가변 영역의 실질적으로 전부를 포함할 수 있으며, 여기서 CDR의 전부 또는 실질적으로 전부는 비인간 면역글로불린의 것들에 상응하고, FR의 전부 또는 실질적으로 전부는 인간 면역글로불린 서열의 것들이다. 소정 실시 형태에서, 인간화 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로는 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부분을 포함할 것이다. 추가의 세부사항에 대해서는, 문헌[Jones *et al.*, Nature 321: 522-25 (1986)]; 문헌[Riechmann *et al.*, Nature 332: 323-29 (1988)]; 문헌[Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2: 593-96 (1992)]; 문헌[Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4285-89 (1992)]; 미국 특허 제6,800,738호; 제6,719,971호; 제6,639,055호; 제6,407,213호; 및 제6,054,297호를 참조한다.

[0047] 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 "완전 인간 항체" 또는 "인간 항체"의 일부분을 포함할 수 있으며, 여기서 이들 용어는 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되고 인간 가변 영역 및, 예를 들어, 인간 불변 영역을 포함하는 항체를 지칭한다. 결합 분자는 항체 서열을 포함할 수 있다. 구체적인 실시 형태

에서, 이들 용어는 인간 기원의 가변 영역 및 불변 영역을 포함하는 항체를 지칭한다. 소정 실시 형태에서, "완전 인간" 항체는 또한, 폴리펩티드에 결합하고 인간 생식세포계열 면역글로불린 핵산 서열의 자연 발생 체세포 변이체인 핵산 서열에 의해 인코딩되는 항체를 포함할 수 있다. 용어 "완전 인간 항체"는 카바트(Kabat) 등에 의해 기재된 바와 같은 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열에 상응하는 가변 영역 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함한다(문헌[Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조). "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체의 것에 상응하고/하거나 인간 항체를 제조하기 위한 기법 중 임의의 것을 사용하여 제조된 것에 상응하는 아미노산 서열을 보유하는 것이다. 인간 항체의 이러한 정의는 비인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 명확히 배제한다. 인간 항체는 파지-디스플레이 라이브러리(문헌[Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227: 381 (1991)]; 문헌[Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222: 581 (1991)]) 및 효모 디스플레이 라이브러리(문헌[Chao *et al.*, Nature Protocols 1: 755-68 (2006)])를 포함하는 당업계에 알려진 다양한 기법을 사용하여 생성될 수 있다. 또한, 인간 단일클론 항체의 제조를 위해, 문헌[Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985)]; 문헌[Boerner *et al.*, J. Immunol. 147 (1) : 86-95 (1991)]; 및 문헌[van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001)]에 기재된 방법이 이용가능하다. 인간 항체는, 항원 시험접종(antigenic challenge)에 반응하여 그러한 항체를 생성하도록 변형되었지만 그의 내인성 유전자좌가 불능화된 유전자도입 동물, 예를 들어, 마우스에 항원을 투여함으로써 제조될 수 있다(예를 들어, 문헌[Jakobovits, Curr. Opin. Biotechnol. 6 (5) : 561-66 (1995)]; 문헌[Brüggemann and Taussing, Curr. Opin. Biotechnol. 8 (4) : 455-58 (1997)]; 및 XENOMOUSE™ 기술에 관한 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,584호 참조). 또한, 예를 들어, 인간 B-세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체에 관한 문헌[Li *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 3557-62 (2006)]을 참조한다.

[0048] 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 "재조합 인간 항체"의 일부분을 포함할 수 있으며, 여기서 이 어구는 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나, 단리된 인간 항체, 예컨대 숙주 세포 내로 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체, 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 인간 면역글로불린 유전자에 대해 유전자도입되고/되거나 염색체도입된 동물(예를 들어, 마우스 또는 소)로부터 단리된 항체(예를 들어, 문헌[Taylor, L. D. *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 20: 6287-6295 (1992)] 참조) 또는 인간 면역글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열에 스플라이싱하는 것을 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나, 단리된 항체를 포함한다. 그러한 재조합 인간 항체는 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역 및 불변 영역을 가질 수 있다(문헌[Kabat, E.A. *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조). 그러나, 소정 실시 형태에서는, 그러한 재조합 인간 항체에 시험관내(*in vitro*) 돌연변이생성(또는 인간 Ig 서열에 대해 유전자도입된 동물이 사용되는 경우, 생체내(*in vivo*) 체세포 돌연변이생성)을 적용하며, 따라서 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식세포계열 VH 및 VL 서열로부터 유래되고 이에 관련되지만 생체내에서 인간 항체 생식세포계열 레퍼토리 내에 천연적으로 존재하지 않을 수 있는 서열이다.

[0049] 소정 실시 형태에서, 결합 분자 또는 항원-결합 도메인은 "단일클론 항체"의 일부를 포함할 수 있으며, 여기서 이 용어는 본 명세서에 사용되는 바와 같이 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 얻어진 항체를 지칭하고, 예를 들어, 집단을 구성하는 개별 항체는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이 또는 잘 알려진 번역 후 변형, 예컨대 아미노산 이성질화 또는 탈아미드화, 메티오닌 산화 또는 아스파라긴 또는 글루타민 탈아미드화를 제외하고는 동일하며, 각각의 단일클론 항체는 전형적으로 항원 상의 단일 에피토프를 인식할 것이다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이 "단일클론 항체"는 단일 하이브리도마 또는 다른 세포에 의해 생성된 항체이다. 용어 "단일클론"은 항체를 제조하기 위한 임의의 특정 방법으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 본 발명에 유용한 단일클론 항체는 문헌[Kohler *et al.*, Nature 256: 495 (1975)]에 의해 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 세균 또는 진핵 동물 또는 식물 세포에서 재조합 DNA 방법을 사용하여 제조될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조). "단일클론 항체"는 또한, 예를 들어, 문헌[Clackson *et al.*, Nature 352: 624-28 (1991)] 및 문헌[Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222: 581-97 (1991)]에 기재된 기법을 사용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 클론 세포주의 제조 및 이에 의해 발현되는 단일클론 항체의 제조를 위한 다른 방법이 당업계에 잘 알려져 있다. 예를 들어, 문헌[Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.* eds., 5th ed. 2002]을 참조한다.

[0050] 전형적인 4-사슬 항체 단위는 2개의 동일한 경쇄(L 사슬) 및 2개의 동일한 중쇄(H 사슬)로 구성된 이종사량체성(heterotetrameric) 당단백질이다. IgG의 경우에, 4-사슬 단위는 일반적으로 약 150,000 달톤이다. 각각의 L 사슬은 하나의 공유적 이황화물 결합에 의해 H 사슬에 연결되는 반면에, 2개의 H 사슬은 H 사슬 동종형에 따라 하나 이상의 이황화물 결합에 의해 서로 연결된다. 각각의 H 사슬 및 L 사슬은 또한 규칙적으로 이격된 사슬내 이황화물 가교를 갖는다. 각각의 H 사슬은 N-말단에 가변 도메인(VH)에 이어서 α 및 γ 사슬 각각에 대한 3개의 불변 도메인(CH) 및 μ 및 ε 동종형에 대한 4개의 CH 도메인을 갖는다. 각각의 L 사슬은 N-말단에 가변 도메인(VL)에 이어서 불변 도메인(CL)을 그의 다른 단부에 갖는다. VL은 VH와 정렬되고, CL은 중쇄(CH1)의 제1 불변 도메인과 정렬된다. 특정 아미노산 잔기가 경쇄 가변 도메인과 중쇄 가변 도메인 사이에 계면을 형성하는 것으로 여겨진다. VH와 VL이 함께 쌍을 이루는 것은 단일 항원-결합 부위를 형성한다. 상이한 부류의 항체의 구조 및 특성에 대해서는, 예를 들어, 문헌[Basic and Clinical Immunology 71 (Stites *et al.* eds., 8th ed. 1994)]; 및 문헌[Immunobiology (Janeway *et al.* eds., 5th ed. 2001)]을 참조한다.

[0051] 용어 "Fab" 또는 "Fab 영역"은 항원에 결합하는 항체 영역을 지칭한다. 통상적인 IgG는 통상적으로 2개의 Fab 영역을 포함하며, 각각은 Y형 IgG 구조의 2개의 아암(arm) 중 하나 상에 존재한다. 각각의 Fab 영역은 전형적으로 중쇄 및 경쇄 각각의 하나의 가변 영역 및 하나의 불변 영역으로 구성된다. 더 구체적으로는, Fab 영역 내의 중쇄의 가변 영역 및 불변 영역은 VH 및 CH1 영역이고, Fab 영역 내의 경쇄의 가변 영역 및 불변 영역은 VL 및 CL 영역이다. Fab 영역 내의 VH, CH1, VL, 및 CL은 본 발명에 따른 항원 결합 능력을 부여하도록 다양한 방식으로 배열될 수 있다. 예를 들어, 통상적인 IgG의 Fab 영역과 유사하게, VH 및 CH1 영역은 하나의 폴리펩티드 상에 존재할 수 있고, VL 및 CL 영역은 별도의 폴리펩티드 상에 존재할 수 있다. 대안적으로, VH, CH1, VL, 및 CL 영역은 모두 동일한 폴리펩티드 상에 존재할 수 있고, 하기 섹션에 더 상세히 기재된 바와 같이 상이한 순서로 배향될 수 있다.

[0052] 용어 "가변 영역", "가변 도메인", "V 영역", 또는 "V 도메인"은, 경쇄 또는 중쇄의 아미노-말단에 일반적으로 위치하며 길이가 중쇄에서는 약 120 내지 130개의 아미노산이고 경쇄에서는 약 100 내지 110개의 아미노산이고, 그의 특정 항원에 대한 각각의 특정 항체의 결합 및 특이성에 사용되는, 항체의 경쇄 또는 중쇄 부분을 지칭한다. 중쇄의 가변 영역은 "VH"로 지칭될 수 있다. 경쇄의 가변 영역은 "VL"로 지칭될 수 있다. 용어 "가변"은 가변 영역의 소정 세그먼트가 항체들 사이에서 서열이 광범위하게 상이하다는 사실을 지칭한다. V 영역은 항원 결합을 매개하고 특정 항체의 그의 특정 항원에 대한 특이성을 한정한다. 그러나, 가변성은 가변 영역의 110-아미노산 스팬에 걸쳐 균일하게 분포되지 않는다. 그 대신에, V 영역은 길이가 각각 약 9 내지 12개의 아미노산인 "초가변 영역"이라고 칭하는 더 큰 가변성(예를 들어, 극단적 가변성)의 더 짧은 영역에 의해 분리된 약 15 내지 30개의 아미노산의 프레임워크 영역(FR)이라고 칭하는 덜 가변성인(예를 들어, 비교적 불변성) 구간으로 이루어진다. 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 영역은, 대체로 β-시트 입체구조를 채택하는 4개의 FR 영역을 포함하며, 이들 FR 영역은 3개의 초가변 영역에 의해 연결되며, 이들 초가변 영역은 β-시트 구조를 연결하는 루프를 형성하고, 일부 경우에는 이의 일부를 형성한다. 각각의 사슬 내의 초가변 영역은 FR에 의해 매우 근접하여 함께 유지되며, 다른 사슬로부터의 초가변 영역은 항체의 항원-결합 부위의 형성에 기여한다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)] 참조). 불변 영역은 항체를 항원에 결합하는 데에는 직접 관여하지 않지만, 다양한 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포성 세포독성(ADCC) 및 보체-의존성 세포독성(CDC)에 있어서의 항체의 참여를 나타낸다. 가변 영역은 상이한 항체들 사이에서 서열이 광범위하게 상이하다. 구체적인 실시 형태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다.

[0053] 용어 "카바트에 따른 가변 영역 잔기 넘버링" 또는 "카바트에서와 같은 아미노산 위치 넘버링", 및 이의 변형 형태는 문헌[Kabat *et al.*, 상기 문헌]에서의 항체 편집의 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역에 사용되는 넘버링 체계를 지칭한다. 이러한 넘버링 체계를 사용하여, 실제 선형 아미노산 서열은 가변 도메인의 FR 또는 CDR의 단축, 또는 이들 내로의 삽입에 상응하는 더 적거나 추가의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 가변 도메인은 잔기 52 뒤에 단일 아미노산 삽입(카바트에 따른 잔기 52a) 및 잔기 82 뒤에 삽입된 3개의 잔기(예를 들어, 카바트에 따른 잔기 82a, 82b, 및 82c 등)를 포함할 수 있다. 잔기의 카바트 넘버링은 주어진 항체에 대해 "표준" 카바트 넘버링 서열과 해당 항체 서열의 상동성 영역에서의 정렬에 의해 결정될 수 있다. 카바트 넘버링 체계는 일반적으로 가변 도메인 내의 잔기(대략 경쇄의 잔기 1 내지 107 및 중쇄의 잔기 1 내지 113)를 지칭하는 경우에 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 문헌]). "EU 넘버링 체계" 또는 "EU 인덱스"는 일반적으로 면역글로불린 중쇄 불변 영역 내의 잔기를 지칭하는 경우에 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 문헌]에 보고된 EU 인덱스). "카바트에서와 같은 EU 인덱스"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 지칭한다. 다른 넘버링 체계는, 예를 들어, AbM, 초티아(Chothia), Contact, IMGT, 및 AHon에 의해

기재되어 있다.

[0054] 항체에 관련하여 사용될 경우에, 용어 "중쇄"는 약 50 내지 70 kDa의 폴리펩티드 사슬을 지칭하며, 여기서 아미노-말단 부분은 약 120 내지 130개 또는 그 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 카르복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 불변 영역은 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 기초하여 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ε), 감마(γ), 및 뮤(μ)로 지칭되는 5개의 별개의 유형(예를 들어, 동종형) 중 하나일 수 있다. 별개의 중쇄들은 크기가 상이하다: α, δ, 및 γ는 대략 450개의 아미노산을 함유하는 반면에, μ 및 ε은 대략 550개의 아미노산을 함유한다. 경쇄와 조합되는 경우에, 이러한 별개의 유형의 중쇄는, IgG의 4개의 하위부류, 즉, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4를 포함하는 5개의 잘 알려진 부류(예를 들어, 동종형)의 항체, IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM을 각각 생성한다.

[0055] 항체에 관련하여 사용될 경우에, 용어 "경쇄"는 약 25 kDa의 폴리펩티드 사슬을 지칭하며, 여기서 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함하고, 카르복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 경쇄의 대략적인 길이는 211 내지 217개의 아미노산이다. 불변 도메인의 아미노산 서열에 기초하여 카파(κ) 또는 람다(λ)로 지칭되는 2개의 별개의 유형이 존재한다.

[0056] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "초가변 영역", "HVR", "상보성 결정 영역", 및 "CDR"은 상호교환 가능하게 사용된다. "CDR"은 면역글로불린(Ig 또는 항체) VH β-시트 프레임워크의 비-프레임워크 영역 내의 3개의 초가변 영역(H1, H2 또는 H3) 중 하나, 또는 항체 VL β-시트 프레임워크의 비-프레임워크 영역 내의 3개의 초가변 영역(L1, L2 또는 L3) 중 하나를 지칭한다. VH 도메인 내의 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3으로도 지칭된다. VL 도메인 내의 CDR1, CDR2 및 CDR3은 각각 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3으로도 지칭된다. 따라서, CDR은 프레임워크 영역 서열 내에 산재된 가변 영역 서열이다.

[0057] CDR 영역은 당업자에게 잘 알려져 있고, 잘 알려진 넘버링 체계에 의해 정의되어 있다. 예를 들어, 카바트 상보성 결정 영역(CDR)은 서열 가변성에 기초하며 가장 일반적으로 사용된다(예를 들어, 문헌[Kabat *et al.*, 상기 문헌]; 문헌[Nick Deschacht *et al.*, J Immunol 2010; 184: 5696-5704) 참조). 초티아는 대신에 구조적 루프의 위치를 나타낸다(예를 들어, 문헌[Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-17 (1987)] 참조). 카바트 넘버링 체계를 사용하여 넘버링될 경우에 초티아 CDR-H1 루프의 단부는 루프의 길이에 따라 H32와 H34 사이에서 변동된다(이는 카바트 넘버링 체계가 H35A 및 H35B에 삽입을 배치하기 때문이고; 35A 및 35B 중 어느 것도 존재하지 않는 경우에, 루프는 32에서 종결되며; 35A만 존재하는 경우에, 루프는 33에서 종결되고; 35A 및 35B 둘 모두가 존재하는 경우에, 루프는 34에서 종결된다). AbM 초가변 영역은 카바트 CDR과 초티아 구조적 루프 사이의 절충을 나타내며, Oxford Molecular의 AbM 항체 모델링 소프트웨어에 의해 사용된다(예를 들어, 문헌[Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)] 참조). "Contact" 초가변 영역은 이용가능한 복합체 결정 구조의 분석에 기초한다. 개발되어 널리 채택되고 있는 다른 범용 넘버링 체계는 ImMunoGeneTics (IMGT) Information System®이다(문헌[Lafranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol. 27 (1) : 55-77 (2003)]). IMGT는 인간 및 다른 척추동물의 면역글로불린(IG), T-세포 수용체(TCR) 및 주요 조직적합성 복합체(MHC)에 특화된 통합 정보 시스템이다. 여기서, CDR은 아미노산 서열 및 경쇄 또는 중쇄 내의 위치 둘 모두의 관점에서 나타낸다. 면역글로불린 가변 도메인의 구조 내의 CDR의 "위치"는 종들 사이에서 보존되고 루프로 불리는 구조에 존재하기 때문에, 구조적 특징에 따라 가변 도메인 서열들을 정렬하는 넘버링 체계를 사용함으로써, CDR 및 프레임워크 잔기가 용이하게 확인된다. 이러한 정보는 하나의 종의 면역글로불린으로부터의 CDR 잔기를, 전형적으로 인간 항체로부터의 수용체 프레임워크 내로 그래프팅 및 대체하는 데 사용될 수 있다. 추가의 넘버링 체계(AHon)가 Honegger 및 Plückthun(문헌[Honegger and Plückthun, J. Mol. Biol. 309: 657-70 (2001)])에 의해 개발되어 있다. 예를 들어, 카바트 넘버링 및 IMGT 고유 넘버링 체계를 포함한 넘버링 체계 사이의 상응성은 당업자에게 잘 알려져 있다(예를 들어, 문헌[Kabat, 상기 참조]; 문헌[Chothia and Lesk, 상기 참조]; 문헌[Martin, 상기 참조]; 문헌[Lefranc *et al.*, 상기 참조] 참조). 이들 초가변 영역 또는 CDR 각각으로부터의 잔기는 하기에 예시된다.

[0058] 다양한 넘버링 체계에 따른 예시적인 CDR

루프	카바트	AbM	초티아	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L26--L32 또는 L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L52 또는 L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L91--L96 또는 L89--L97	L89--L96	L105-L117
CDR H1	H31--H35B (카바트 넘버링)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
CDR H1	H31--H35 (초티아 넘버링)	H26--H35	H26--H32	H30--H35	
CDRH2	H50--H65	H50--H58	H53--H55 또는 H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H96--H101 또는 H95--H102	H93--H101	H105-H117

[0059]

[0060] 주어진 CDR의 경계는 확인에 사용되는 체계(scheme)에 따라 변동될 수 있다. 따라서, 달리 명시되지 않는 한, 주어진 항체 또는 이의 영역, 예컨대 가변 영역의 용어 "CDR" 및 "상보성 결정 영역"뿐만 아니라 항체 또는 이의 영역의 개별 CDR(예를 들어, CDR-H1, CDR-H2)은 상기 본 명세서에 기재된 알려진 체계 중 임의의 것에 의해 정의된 바와 같은 상보성 결정 영역을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 일부 경우에는, IMGT, 카바트, 초티아, 또는 Contact 방법에 의해 정의되는 바와 같은 CDR과 같이, 특정 CDR 또는 CDR들의 확인을 위한 체계가 명시된다. 다른 경우에는, CDR의 특정 아미노산 서열이 주어진다. CDR 영역은 또한 다양한 넘버링 체계들의 조합, 예를 들어 카바트 넘버링 체계와 초티아 넘버링 체계의 조합, 또는 카바트 넘버링 체계와 IMGT 넘버링 체계의 조합에 의해 정의될 수 있다. 따라서, "특정 VH에 제시된 바와 같은 CDR1"과 같은 용어는 전술된 예시적인 CDR 넘버링 체계에 의해 정의된 바와 같은 임의의 CDR1을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 일단 가변 영역(예를 들어, VH 또는 VL)이 주어지면, 당업자는 이 영역 내의 CDR이 상이한 넘버링 체계들 또는 이들의 조합에 의해 정의될 수 있음을 이해할 것이다.

[0061] 초가변 영역은 다음과 같은 "연장된 초가변 영역"을 포함할 수 있다: VL 내의 24 내지 36 또는 24 내지 34(L1), 46 내지 56 또는 50 내지 56(L2) 및 89 내지 97 또는 89 내지 96(L3) 및 VH 내의 26 내지 35 또는 26 내지 35A(H1), 50 내지 65 또는 49 내지 65(H2) 및 93 내지 102, 94 내지 102, 또는 95 내지 102(H3).

[0062] 용어 "불변 영역" 또는 "불변 도메인"은, 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 관여하지는 않지만 Fc 수용체와의 상호작용과 같은 다양한 이펙터 기능을 나타내는 경쇄 및 중쇄의 카르복시 말단부를 지칭한다. 이 용어는 항원-결합 부위를 함유하는 면역글로불린의 다른 부분, 즉 가변 영역에 비하여 더 보존된 아미노산 서열을 갖는 면역글로불린 분자의 일부분을 지칭한다. 불변 영역은 중쇄의 CH1, CH2, 및 CH3 영역 및 경쇄의 CL 영역을 함유할 수 있다.

[0063] 용어 "프레임워크" 또는 "FR"은 CDR을 플랭킹하는 가변 영역 잔기이다. FR 잔기는, 예를 들어 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체, 도메인 항체, 다이아바디, 선형 항체, 및 이중특이성 항체 내에 존재한다. FR 잔기는 초가변 영역 잔기 또는 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다.

[0064] 본 명세서에서, 용어 "Fc 영역"은, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역, 재조합 Fc 영역, 및 변이체 Fc 영역을 포함한, 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 한정하는 데 사용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 변동될 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 종종 위치 Cys226에서의 아미노산 잔기로부터, 또는 Pro230으로부터 이의 카르복실-말단까지 신장되도록 한정된다. Fc 영역의 C-말단 라이신(EU 넘버링 체계에 따라 잔기 447)은, 예를 들어 항체의 생성 또는 정제 동안에, 또는 항체의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 재조합적으로 조작함으로써 제거될 수 있다. 따라서, 온전한 항체의 조성물은 모든 K447 잔기가 제거된 항체 집단, K447 잔기가 제거되지 않은 항체 집단, 및 K447 잔기가 있거나 없는 항체의 혼합물을 갖는 항체 집단을 포함할 수 있다. 기능성 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역의 이펙터 기능을 갖는다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; CDC; Fc 수용체 결합; ADCC; 식세포작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향조절 등을 포함한다. 그러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 영역 또는 결합 도메인(예를 들어, 항체 가변 영역 또는 도메인)과 조합되는 것을 필요로 하며, 당업자에게 알려진 다양한 검정을 사용하여 평가할 수 있다. "변이체 Fc 영역"은 하

나 이상의 아미노산 변형(예를 들어, 치환, 부가, 또는 결실)에 의해 천연 서열 Fc 영역의 것과는 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 소정 실시 형태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모(parent) 폴리펩티드의 Fc 영역과 대비하여 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들어, 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역 내에 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 또는 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본 명세서의 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 적어도 약 80%의 상동성, 또는 이들과 적어도 약 90%의 상동성, 예를 들어, 이들과 적어도 약 95%의 상동성을 보유할 수 있다.

[0065] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "에피토프"는 당업계의 용어이며, 결합 분자(예를 들어, 항체)가 특이적으로 결합할 수 있는 항원의 국부화된 영역을 지칭한다. 에피토프는 선형 에피토프 또는 입체형태, 비선형, 또는 불연속 에피토프일 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드 항원의 경우에, 에피토프는 폴리펩티드의 인접한 아미노산일 수 있거나("선형" 에피토프), 에피토프는 폴리펩티드의 2개 이상의 비인접 영역으로부터의 아미노산을 포함할 수 있다("입체형태", "비선형", 또는 "불연속" 에피토프). 일반적으로, 선형 에피토프는 2차, 3차, 또는 4차 구조에 의존하거나 의존하지 않을 수 있음을 당업자는 인정할 것이다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 결합 분자는 아미노산의 군이 천연 3차원 단백질 구조로 접혀 있는지의 여부에 무관하게 아미노산의 군에 결합한다. 다른 실시 형태에서, 에피토프를 인식하고 결합하기 위해 결합 분자는 에피토프를 이루는 아미노산 잔기가 특정 입체형태를 나타낼 것(예를 들어, 굽혀지거나, 비틀리거나, 방향전환되거나, 접힐 것)을 필요로 한다.

[0066] 펩티드, 폴리펩티드 또는 항체 서열에 대한 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성" 및 "상동성"은, 서열을 정렬하고, 필요하다면 갭(gap)을 도입하여 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성한 후에, 특정 펩티드 또는 폴리펩티드 서열 내의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 내의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의되며, 이때 서열 동일성의 일부로서 어떠한 보존적 치환도 고려하지 않는다. % 아미노산 서열 동일성을 결정하기 위한 정렬은 당업계의 기술 범위 내에 있는 다양한 방법으로, 예를 들어 공개적으로 입수가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 MEGALIGN™(DNASTAR) 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열들의 전장에 걸쳐 최대한의 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 정렬을 측정하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0067] 용어 "특이성"은 항원의 특정 에피토프에 대한 항원-결합 단백질의 선택적 인식을 지칭한다. 천연 항체는, 예를 들어 단일특이성이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "다중특이성"은 항원-결합 단백질이 2개 이상의 항원-결합 부위를 가지며, 이들 중 적어도 2개가 상이한 항원에 결합함을 나타낸다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이중특이성"은 항원-결합 단백질이 2개의 상이한 항원-결합 특이성을 가짐을 나타낸다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "단일특이성" 항체는, 하나 이상의 결합 부위를 가지되 이들 각각은 동일한 항원에 결합하는 항원-결합 단백질을 나타낸다.

[0068] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "가(valent)"는 항원-결합 단백질 내의 지정된 수의 결합 부위의 존재를 나타낸다. 예를 들어 천연 항체, 또는 전장 항체는 2개의 결합 부위를 가지며 2가이다. 그러한 바와 같이, 용어 "3가", "4가", "5가" 및 "6가"는 항원-결합 단백질 내의 각각 2개의 결합 부위, 3개의 결합 부위, 4개의 결합 부위, 5개의 결합 부위, 및 6개의 결합 부위의 존재를 나타낸다.

[0069] 용어 "폴리펩티드" 및 "펩티드" 및 "단백질"은 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되며, 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있으며, 그것은 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 그것에는 비-아미노산이 개재될 수 있다. 그 용어는 또한 천연적으로 또는 개입; 예를 들어, 이황화물 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포함한다. 예를 들어, 아미노산의 하나 이상의 유사체 - 이는 비천연 아미노산을 포함하지만 이로 한정되지 않음 - 를 함유하는 폴리펩티드뿐만 아니라 당업계에 알려진 다른 변형이 정의 내에 또한 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드는 면역글로불린 슈퍼패밀리의 항체 또는 다른 구성원에 기반할 수 있기 때문에, 소정 실시 형태에서, "폴리펩티드"는 단일쇄로서 또는 2개 이상의 회합된 사슬로서 발생할 수 있음이 이해된다.

[0070] 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되는 바와 같이, "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해, 또는 합성 반응에 의해 중합체 내로 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 메틸화된 뉴클레오티드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "올리고뉴클레오티드"는 일반적으로 길이가 약 200개 미만의 뉴클레오티드이지만 반드시 그러하지는 않은, 일반적으로 단일-가닥인 짧은 합성 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 용어 "올리고뉴클레오티드"와 "폴리뉴클레오티드"

는 상호 배타적이지 않다. 폴리뉴클레오티드에 대한 상기 설명은 올리고뉴클레오티드에 동일하고 완전하게 적용가능하다. 본 발명의 결합 분자를 생성하는 세포는 모 하이브리도마 세포뿐만 아니라, 항체를 인코딩하는 핵산이 도입된 세균 및 진핵 숙주 세포를 포함할 수 있다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에 개시된 임의의 단일-가닥 폴리뉴클레오티드 서열의 좌측 단부는 5' 단부이고; 이중-가닥 폴리뉴클레오티드 서열의 좌측 방향은 5' 방향으로 지칭된다. 신생(nascent) RNA 전사체의 5'으로부터 3'으로의 부가의 방향은 전사 방향으로 지칭되고; RNA 전사체의 5' 단부에 대해 5'에 있는 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역은 "상류 서열"로 지칭되며; RNA 전사체의 3' 단부에 대해 3'에 있는 RNA 전사체와 동일한 서열을 갖는 DNA 가닥 상의 서열 영역은 "하류 서열"로 지칭된다.

[0071] "단리된 핵산"은 다른 게놈 DNA 서열로부터 실질적으로 분리된 핵산, 예를 들어, RNA, DNA, 또는 혼합 핵산뿐만 아니라, 천연 서열을 천연적으로 수반하는 리보솜 및 폴리머라제와 같은 단백질 또는 복합체이다. "단리된" 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원 내에 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것이다. 더욱이, "단리된" 핵산 분자, 예컨대 cDNA 분자에는, 재조합 기법에 의해 생성될 때에는 다른 세포 물질, 또는 배양 배지가 실질적으로 없을 수 있거나, 화학적으로 합성될 때에는 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 인코딩하는 하나 이상의 핵산 분자는 단리되거나 정제된다. 이 용어는 자연 발생 환경으로부터 제거된 핵산 서열을 포함하며, 재조합 또는 클로닝된 DNA 단리물 및 화학적으로 합성된 유사체 또는 이종성 시스템에 의해 생물학적으로 합성된 유사체를 포함한다. 실질적으로 순수한 분자는 단리된 형태의 분자를 포함할 수 있다. 구체적으로는, 본 명세서에 기재된 항체를 인코딩하는 "단리된" 핵산 분자는, 확인되고 적어도 하나의 오염물 핵산 분자로부터 분리된 핵산 분자로서, 이때 오염물 핵산 분자란, 상기 분리된 핵산 분자가 생성된 환경에서 통상 그와 관련되어 있는 것이다.

[0072] 달리 명시되지 않는 한, "아미노산 서열을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열"은 서로의 축퇴된 버전인 그리고 동일한 아미노산 서열을 인코딩하는 모든 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 단백질 또는 RNA를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이라는 어구는 또한 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 어떤 버전에서 인트론(들)을 함유할 수 있는 정도까지 인트론을 포함할 수 있다.

[0073] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 지칭한다. 예를 들어 원핵생물에 적합한 제어 서열은 프로모터, 선택적으로 작동자 서열, 및 리보솜-결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.

[0074] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "작동가능하게 연결된" 및 유사한 어구(예를 들어, 유전자적으로 융합된)는 핵산 또는 아미노산과 관련하여 사용될 때, 서로 기능적 관계에 놓여진, 각각 핵산 서열 또는 아미노산 서열의 작동가능한 연결을 지칭한다. 예를 들어, 작동가능하게 연결된 프로모터, 인핸서 요소, 오픈 리딩 프레임(open reading frame), 5' 및 3' UTR, 및 종결자 서열은 핵산 분자(예를 들어, RNA)의 정확한 생성을 가져온다. 일부 실시 형태에서, 작동가능하게 연결된 핵산 요소는 오픈 리딩 프레임의 전사, 그리고 궁극적으로는 폴리펩티드의 생성(즉, 오픈 리딩 프레임의 발현)을 가져온다. 다른 예로서, 작동가능하게 연결된 펩티드는 기능성 도메인들이 서로 적절한 거리를 두고 위치하여 각각의 도메인의 의도된 기능을 부여하는 것이다.

[0075] 용어 "벡터"는 핵산 서열을 숙주 세포 내로 도입하기 위해, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 결합 분자(예를 들어, 항체)를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 핵산 서열을 운반하거나 포함하기 위해 사용되는 물질을 지칭한다. 사용에 적용가능한 벡터는, 예를 들어, 발현 벡터, 플라스미드, 파지 벡터, 바이러스 벡터, 에피솜, 및 인공 염색체를 포함하며, 이들은 숙주 세포의 염색체 내로의 안정한 통합을 위해 작동가능한 선택 서열 또는 마커를 포함할 수 있다. 또한, 벡터는 하나 이상의 선택가능한 마커 유전자 및 적절한 발현 제어 서열을 포함할 수 있다. 포함될 수 있는 선택가능한 마커 유전자는, 예를 들어, 항생제 또는 독소에 대한 저항성을 제공하거나, 영양요구성 결핍을 보충하거나, 배양 배지 내에 없는 중요한 영양소를 공급한다. 발현 제어 서열은 당업계에 잘 알려진 구성적 및 유도성 프로모터, 전사 인핸서, 전사 종결자 등을 포함할 수 있다. 2개 이상의 핵산 분자가 공발현되어야 하는 경우에(예를 들어, 항체 중쇄 및 경쇄 또는 항체 VH 및 VL 둘 모두), 예를 들어, 단일 발현 벡터 내로, 또는 별도의 발현 벡터 내에 둘 모두의 핵산 분자가 삽입될 수 있다. 단일 벡터 발현의 경우에, 인코딩 핵산은 하나의 공통 발현 제어 서열에 작동가능하게 연결되거나, 상이한 발현 제어 서열, 예컨대 하나의 유도성 프로모터 및 하나의 구성적 프로모터에 연결될 수 있다. 숙주 세포 내로의 핵산 분자의 도입은 당업계에 잘 알려진 방법을 사용하여 확인할 수 있다. 그러한 방법은, 예를 들어, mRNA의 노던 블롯 또는 폴리머라제 연쇄 반응(PCR) 증폭과 같은 핵산 분석, 유전자 생성물의 발현에 대한 면역블로팅, 또는 도입된 핵산 서열의 발현 또는 그의 상응하는 유전자 생성물을 시험하기 위한 다른 적합한 분석 방법을 포함한다. 당업자는 핵산 분자가 원하는 생성물을 생성하기에 충분한 양으로 발현됨을 이해하며, 당업계에 잘 알려진

방법을 사용하여 충분한 발현을 얻기 위해 발현 수준을 최적화할 수 있음을 추가로 이해한다.

[0076] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "숙주"는 포유류(예를 들어, 인간)와 같은 동물을 지칭한다.

[0077] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 핵산 분자로 형질감염될 수 있는 특정 대상 세포 및 그러한 세포의 자손 또는 잠재적 자손을 지칭한다. 이러한 세포의 자손은 후속 세대에서 발생할 수 있는 돌연변이 또는 환경적 영향 또는 숙주 세포 게놈 내로의 핵산 분자의 통합으로 인해 핵산 분자로 형질감염된 모세포와 동일하지 않을 수 있다.

[0078] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된"은 외인성 핵산이 숙주 세포 내로 전달되거나 도입되는 공정을 지칭한다. "형질감염된" 또는 "형질전환된" 또는 "형질도입된" 세포는 외인성 핵산을 사용하여 형질감염되거나, 형질전환되거나 또는 형질도입된 것이다. 세포는 1차 대상 세포 및 이의 자손을 포함한다.

[0079] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "약제학적으로 허용되는"은 미연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되어 있거나 미국 약전, 유럽 약전, 또는 동물에서의, 그리고 더 구체적으로는 인간에서의 사용에 대해 일반적으로 승인된 기타 약전에 열거되어 있음을 의미한다.

[0080] "부형제"는 약제학적으로 허용되는 물질, 조성물, 또는 비히클, 예컨대 액체 또는 고체 충전제, 희석제, 용매, 또는 캡슐화 재료를 의미한다. 부형제는, 예를 들어, 캡슐화 재료 또는 첨가제, 예컨대 흡수 촉진제, 산화방지제, 결합제, 완충제, 담체, 코팅제, 착색제, 희석제, 붕해제, 유화제, 증량제, 충전제, 향미제, 보습제, 윤활제, 향료, 보존제, 추진제, 이형제, 살균제, 감미제, 가용화제, 습윤제, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 용어 "부형제"는 또한 희석제, 애쥬번트(adjuvant)(예를 들어, 프로인트(Freund) 애쥬번트(완전 또는 불완전)), 또는 비히클을 지칭할 수 있다.

[0081] 일부 실시 형태에서, 부형제는 약제학적으로 허용되는 부형제이다. 약제학적으로 허용되는 부형제의 예는 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기산; 산화방지제(아스코르브산을 포함함); 저분자량(예를 들어, 약 10개 미만의 아미노산 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌, 또는 라이신; 단당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린을 포함한 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당 알코올, 예컨대 만니톨 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 소듐; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN™, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 및 PLURONICS™를 포함한다. 약제학적으로 허용되는 부형제의 다른 예는 문헌[Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)]에 기재되어 있다.

[0082] 일 실시 형태에서, 약제학적 제형의 다른 성분과 상용성이고, 과도한 독성, 자극, 알레르기성 반응, 면역원성, 또는 다른 문제 또는 합병증 없이 인간 및 동물의 조직 또는 장기와 접촉되어 사용하기에 적합하며, 합리적인 이익/위험 비에 상응한다는 의미에서, 각각의 성분은 "약제학적으로 허용가능"하다. 예를 들어, 문헌[Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.]; 문헌[Rowe *et al.*, Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009]; 문헌[Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007]; 문헌Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009]을 참조한다. 일부 실시 형태에서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 사용된 투여량 및 농도에서 이에 노출되는 세포 또는 포유류에 대해 비독성이다. 일부 실시 형태에서, 약제학적으로 허용되는 부형제는 수성 pH 완충 용액이다.

[0083] 일부 실시 형태에서, 부형제는 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 낙화생유, 대두유, 광유, 참기름 등을 포함하는, 물 및 오일과 같은 멸균 액체이다. 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)이 정맥내 투여되는 경우에 물이 예시적인 부형제이다. 식염수 용액, 및 덱스트로스 및 글리세롤 수용액이 또한, 특히 주사 용액을 위한 액체 부형제로서 사용될 수 있다. 부형제는 또한 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 곡분(flour), 백악, 실리카 겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함할 수 있다. 조성물은, 필요하다면, 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속-방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 제형을 포함하는 경구 조성물은 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등과 같은 표준 부형제를 포함할 수 있다.

[0084] 약제학적 화합물을 포함하는 조성물은, 적합한 양의 부형제와 함께, 예를 들어, 단리되거나 정제된 형태로, 결합 분자(예를 들어, 항체)를 함유할 수 있다.

[0085] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "유효량" 또는 "치료적 유효량"은 원하는 결과를 가져오기 충분한 본 명세서에 제공된 항체, 또는 작용제(agent)및 상기 항체를 포함하는 치료용 분자, 또는 약제학적 조성물의 양을 지칭한다.

[0086] 용어 "대상체"와 "환자"는 상호교환 가능하게 사용될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 소정 실시 형태에서, 대상체는 포유동물, 예컨대 비영장류 또는 영장류(예를 들어, 인간)이다. 구체적인 실시 형태에서, 대상체는 인간이다. 일 실시 형태에서, 대상체는 질병 또는 장애로 진단된 포유동물, 예를 들어, 인간이다. 다른 실시 형태에서, 대상체는 질병 또는 장애가 발생할 위험이 있는 포유동물, 예를 들어, 인간이다.

[0087] "투여하다" 또는 "투여"는, 예컨대 점막, 피내, 정맥내, 근육내 전달, 및/또는 본 명세서에 기재되거나 당업계에 알려진 임의의 다른 물리적 전달 방법에 의해, 신체 외부에 존재하는 물질을 환자에게 주사하거나 달리 물리적으로 전달하는 행위를 지칭한다.

[0088] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료", 및 "치료하는"은, 하나 이상의 요법의 투여로부터 발생되는, 질병 또는 장애의 진행, 중증도, 및/또는 지속기간의 감소 또는 호전을 지칭한다. 환자가 여전히 기저 장애를 앓고 있을 수 있음에도 불구하고, 환자에게 개선이 관찰되도록 기저 장애와 관련된 하나 이상의 증상의 감소, 경감, 및/또는 완화가 있었는지의 여부를 평가함으로써 치료를 결정할 수 있다. 용어 "치료"는 질병을 관리 및 호전시키는 것 둘 모두를 포함한다. 용어 "관리하다", "관리하는", 및 "관리"는 대상체가 요법으로부터 얻는 유익한 효과를 지칭하며, 이는 반드시 질병의 치유를 가져오지는 않는다.

[0089] 용어 "예방하다", "예방하는", 및 "예방"은 질병, 장애, 질환, 또는 관련 증상(들)(예를 들어, 당뇨병 또는 암)의 개시(또는 재발)의 가능성을 감소시키는 것을 지칭한다.

[0090] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 질병의 발생을 "지연시키는 것"은 질병의 발생을 연기, 저해, 둔화, 지체, 안정화, 및/또는 미루는 것을 의미한다. 이러한 지연은 질병의 병력 및/또는 치료되는 개체에 따라 다양한 기간이 될 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분하거나 유의한 지연은 사실상 개체에서 질병이 발생되지 않는다는 점에서 예방을 포함할 수 있다. 질병의 발생을 "지연시키는" 방법은 본 방법을 사용하지 않는 경우에 비하여 주어진 시간 프레임 내에서 질병 발생의 가능성을 감소시키고/시키거나 주어진 시간 프레임 내에서 질병의 정도를 감소시키는 방법이다. 그러한 비교는 전형적으로 통계학적으로 유의한 수의 개체를 사용하여 임상 연구에 기초한다.

[0091] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "활성화된 간 성상 세포(HSC) 관련 질병 또는 장애" 또는 유사한 용어는 활성화된 HSC에 의해 적어도 부분적으로 야기된 질병 또는 장애를 포함한 활성화된 HSC를 갖는 조직을 포함하는 질병 또는 장애를 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 비정상적인 양(예를 들어, 정상적인 양보다 더 높은 양)의 활성화된 HSC를 특징으로 한다. 그러한 질병 또는 장애는, 예를 들어 간 섬유증을 포함한다.

[0092] 용어 "약" 및 "대략"은 주어진 값 또는 범위의 20% 이내, 15% 이내, 10% 이내, 9% 이내, 8% 이내, 7% 이내, 6% 이내, 5% 이내, 4% 이내, 3% 이내, 2% 이내, 1% 이내, 또는 그 미만을 의미한다.

[0093] 본 명세서 및 청구범위에 사용되는 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the")은 문맥상 명백히 달리 나타내지 않는 한 복수형을 포함한다.

[0094] 실시 형태가 용어 "포함하는"으로 본 명세서에 기재되는 경우에는 언제나, "~로 이루어진" 및/또는 "~로 본질적으로 이루어진"의 용어로 기재된 것 이외에는 유사한 실시 형태가 또한 제공됨이 이해된다. 실시 형태가 어구 "~로 본질적으로 이루어진"으로 본 명세서에 기재되는 경우에는 언제나, "~로 이루어진"의 용어로 기재된 것 이외에는 유사한 실시 형태가 또한 제공됨이 또한 이해된다.

[0095] "A와 B 사이의" 또는 "A-B 사이의"와 같은 어구에 사용되는 바와 같이, 용어 "사이의"는 A 및 B 둘 모두를 포함하는 범위를 지칭한다.

[0096] 본 명세서에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에 사용되는 바와 같이, 용어 "및/또는"은 A 및 B 둘 모두; A 또는 B; A(단독); 및 B(단독)를 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에 사용되는 바와 같이, 용어 "및/또는"은 하기 실시 형태 각각을 포함하도록 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독).

[0097] 5.2.결합 분자

[0098] 하기 섹션 7에 나타낸 바와 같이, (예를 들어, Fc 돌연변이에 의해) 향상된 ADCC를 갖도록 조작될 때 활성화된 간 성상 세포(HSC)를 표적화하는 결합 분자는 HSC를 고갈시키는 데 유의하게 더 효과적이다. 놀랍게도, 향상된 ADCC를 갖는 그러한 결합 분자는 치료적 효과에 대한 생체내 연구에서 그러한 향상된 ADCC 특성을 갖지 않는 비견되는 결합 분자와 극적으로 상이하게 수행되며, 이로써, 그러한 활성화된 HSC 결합 분자가 치료적 효과를 발휘하는 데 그리고 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애, 예컨대 간 섬유증을 치료하는 데 사용함에 있어서 향상된 ADCC가 중요하다. 어떠한 이론에도 구애됨이 없이, 향상된 ADCC에 의해 부여되는 치료적 효과의 그러한 극적인 차이는 HSC에 고유하게 나타나며, 이러한 특정 유형의 세포의 특성에 기인할 수 있다. 따라서, 본 명세서에 제공된 다른 이점들 중에서, 본 발명은 HSC 관련 질병 또는 장애에 대한 새로운 치료 전략(조성물 및 방법을 포함함)을 제공한다.

[0099] 따라서, 특히, 본 발명은 이펙터 기능(예컨대, ADCC)을 향상시키기 위한 수단을 포함하는 HSC 결합 분자 및 이의 용도를 제공한다. 일 태양에서, 활성화된 간 성상 세포(HSC) 상에서 발현되는 항원에 결합하는 결합 도메인, 및 항체 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 결합 분자는 Fc 함유 분자이다. 일부 실시 형태에서, 결합 분자는 항체(온전한 항체의 항원-결합 단편을 포함함)이다. 다른 실시 형태에서, 결합 분자는 Fc 영역에 융합된 결합 도메인을 포함한다. 하기에 더 상세히 기재된 바와 같이, ADCC를 향상시키기 위한 수단은 ADCC 향상 Fc 돌연변이, 및 면역 세포를 활성화하는 추가의 결합 도메인을 도입시키는 것을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0100] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 10%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 20%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 30%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 40%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 50%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 60%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 70%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 80%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 10% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 20% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 30% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 40% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 50% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 60% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 70% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 70% 내지 90%만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다.

[0101] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 2배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 3배만큼 HSC의 고갈을

증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 4배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 5배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 6배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 7배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 8배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 9배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 2배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 3배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 4배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 5배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 6배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 7배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 8배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다. 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는, ADCC를 향상시키는 기능성 도메인이 없는 비견되는 결합 분자와 비교하여 적어도 9배 내지 10배만큼 HSC의 고갈을 증가시킨다.

[0102] <u>다중특이성 결합 분자</u>

[0103] 본 명세서에 제공된 다중특이성 결합 분자는 HSC 상에서 발현되는 하나 이상의 항원(들)에 결합할 수 있는 하나 이상의 HSC 결합 도메인(들)을 포함하며, 이러한 항원에는, 예를 들어 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2가 포함된다. 일부 실시 형태에서, HSC 결합 도메인은 하기 섹션 'HSC 결합 도메인'에 기재된 바와 같거나 또는 거기에 기재된 항체로부터 유래된다.

[0104] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 다중특이성 결합 분자는 HSC 상에서 발현되는 제1 항원에 결합할 수 있는 제1 결합 도메인, 및 HSC 상에서 발현되는 제2 항원에 결합할 수 있는 제2 결합 도메인을 포함하며, 제1 및 제2 항원은, 예를 들어 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2로 이루어진 군으로부터 선택된다.일부 실시 형태에서, 제1 및 제2 HSC 결합 도메인은 하기 섹션 'HSC 결합 도메인'에 기재된 바와 같거나

또는 거기에 기재된 항체로부터 유래된다.

[0105] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 다중특이성 결합 분자는 활성화된 HSC에 대한 항체 이펙터 기능을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체 이펙터 기능은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역이다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포는 NK 세포이다.

[0106] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역이다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 다중특이성 분자는 하기 섹션 '변이체 Fc 영역을 포함하는 결합 분자'에 기재된 바와 같은 변이체 Fc 영역을 포함한다.

[0107] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 수용체를 조절한다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 억제하는 수용체를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, TIGIT, PVRIG, 및 A2a로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 하기 섹션 '면역 세포 활성화 도메인을 포함하는 결합 분자'에 기재된 바와 같거나 또는 거기에 기재된 항체로부터 유래된다.

[0108] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 다중특이성 분자는 다중특이성 항체이다. 본 명세서에 제공된 항체는 합성 항체, 단일클론 항체, 재조합적으로 생성된 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 키메라 항체 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0109] 특히, 본 명세서에 제공된 항체는 면역글로불린 분자, 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 즉, 항원에 면역특이적으로 결합하는 항원-결합 부위를 함유하는 분자를 포함한다. 본 명세서에 제공된 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 하위부류의 면역글로불린 분자일 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 IgG 항체, 예컨대 IgG1 항체, IgG2 항체 또는 IgG4 항체(예를 들어, IgG4 널바디 및 IgG4 항체의 변이체)이다. 구체적인 실시 형태에서, IgG 항체는 IgG1 항체이다.

[0110] 당업계에 알려진 임의의 다중특이성 항체 플랫폼 또는 포맷이 본 발명에 사용될 수 있으며, 이에는 당업계에 알려진 임의의 이중특이성 항체 포맷이 포함된다.

[0111] 일부 실시 형태에서, 다중특이성 항체는 하기를 포함한다: 이종이량체화를 촉진하는 상보적 CH3 도메인을 갖는 IgG-유사 분자; 재조합 IgG-유사 이중 표적화 분자 - 여기서는, 분자의 2개의 측 각각이 적어도 2개의 상이한 항체의 Fab 단편 또는 Fab 단편의 일부를 함유함 -; IgG 융합 분자 - 여기서는, 전장 IgG 항체가 추가 Fab 단편 또는 Fab 단편의 일부에 융합됨 -; Fc 융합 분자 - 여기서는, 단일쇄 Fv 분자 또는 안정화된 다이아바디가 중쇄 불변 도메인, Fc 영역 또는 이의 일부에 융합됨 -; Fab 융합 분자 - 여기서는, 상이한 Fab 단편들이 함께 융합됨 -; scFv- 및 다이아바디-기반 및 중쇄 항체(예를 들어, 도메인 항체, 나노바디) - 여기서는, 상이한 단일쇄 Fv 분자들 또는 상이한 다이아바디들 또는 상이한 중쇄 항체들(예를 들어, 도메인 항체, 나노바디)이 서로 또는 다른 단백질 또는 운반체 분자에 융합됨.

[0112] 일부 실시 형태에서, 상보적 CH3 도메인 분자를 갖는 IgG-유사 분자는 Triomab/Quadroma (Trion Pharma/Fresenius Biotech), 노브-인투-홀(Knob-into-Hole) (Genentech), CrossMAb (Roche) 및 정전기적-매칭(electrostatically-matched) (Amgen), LUZ-Y (Genentech), 가닥 교환 조작된 도메인 바디(Strand Exchange Engineered Domain body)(SEEDbody) (EMD Serono), Biclonic (Merus) 및 DuoBody (Genmab A/S)를 포함한다.

[0113] 일부 실시 형태에서, 재조합 IgG-유사 이중 표적화 분자는 이중 표적화(Dual Targeting)(DT)-Ig (GSK/Domantis), 투-인-원 항체(Two-in-one Antibody) (Genentech), 가교결합된(Cross-linked) Mab (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) 및 CovX-바디 (CovX/Pfizer)를 포함한다.

[0114] 일부 실시 형태에서, IgG 융합 분자는 이중 가변 도메인(Dual Variable Domain, DVD)-Ig (Abbott), IgG-유사 이중특이체 (ImClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) 및 BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) 및

TvAb (Roche)를 포함한다.

[0115] 일부 실시 형태에서, Fc 융합 분자는 ScFv/Fc 융합체 (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), 이중 친화성 재표적화 기술(Dual Affinity Retargeting Technology)(Fc-DART) (MacroGenics) 및 이중(Dual)$(ScFv)_2$-Fab (National Research Center for Antibody Medicine-China)를 포함할 수 있다.

[0116] 일부 실시 형태에서, Fab 융합 이중특이성 항체는 $F(ab)_2$ (Medarex/AMGEN), 이중-작용체(Dual-Action) 또는 Bis-Fab (Genentech), 독-앤드-록(Dock-and-Lock, DNL) (ImmunoMedics), 2가 이중특이체(Bivalent Bispecific) (Biotecnol) 및 Fab-Fv (UCB-Celltech)를 포함한다. ScFv-, 다이아바디-기반 및 도메인 항체는 이중특이성 T 세포 인게이저(BiTE) (Micromet), 탠덤 다이아바디(Tandab) (Affimed), 이중 친화성 재표적화 기술(DART) (MacroGenics), 단일쇄 다이아바디(Academic), TCR-유사 항체(AIT, ReceptorLogics), 인간 혈청 알부민 ScFv 융합체(Merrimack) 및 COMBODY(Epigen Biotech), 이중 표적화 나노바디(Ablynx), 이중 표적화 중쇄 단독 도메인 항체를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0117] 본 명세서에 제공된 전장 이중특이성 항체는, 예를 들어 2개의 단일특이성 2가 항체들 사이에서의 Fab 아암 교환(또는 하프 분자 교환)을 사용하여 생성될 수 있는데, 이는 공발현을 사용하거나 또는 무세포 환경에서의 시험관내에서, 각각의 하프 분자 내의 중쇄 CH3 계면에 치환을 도입하여 별개의 특이성을 갖는 2개의 항체 하프 분자의 이종이량체 형성을 유리하게 함으로써 행해진다. Fab 아암 교환 반응은 이황화물-결합 이성질화 반응 및 CH3 도메인의 해리-회합의 결과이다. 모 단일특이성 항체의 힌지 영역 내의 중쇄 이황화물 결합은 환원된다. 모 단일특이성 항체들 중 하나의, 생성된 유리 시스테인은, 제2 모 단일특이성 항체 분자의 시스테인 잔기와 중쇄간 이황화물 결합을 형성하고, 동시에 모 항체의 CH3 도메인이 해리-회합에 의해 방출 및 재형성된다. Fab 아암의 CH3 도메인은 동종이량체화에 비하여 이종이량체화에 유리하도록 조작될 수 있다. 생성된 산물은, 각각이 별개의 에피토프와 결합하는 2개의 Fab 아암 또는 하프 분자를 갖는 이중특이성 항체이다. 다중특이성 항체를 제조하는 다른 방법이 알려져 있으며 고려된다.

[0118] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "동종이량체화"는 동일한 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄의 상호작용을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "동종이량체"는 동일한 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.

[0119] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이종이량체화"는 동일하지 않은 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄의 상호작용을 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "이종이량체"는 동일하지 않은 CH3 아미노산 서열을 갖는 2개의 중쇄를 갖는 항체를 지칭한다.

[0120] "노브-인-홀(knob-in-hole)" 전략(예를 들어, PCT 특허 출원 공개 WO2006/028936호 참조)이 전장 이중특이성 항체를 생성하는 데 사용될 수 있다. 간략하게 말해서, 인간 IgG 내에 CH3 도메인의 계면을 형성하는 선택된 아미노산이 CH3 도메인 상호작용에 영향을 주는 위치에서 돌연변이화되어 이종이량체 형성을 촉진할 수 있다. 작은 측쇄(홀)를 갖는 아미노산이 제1 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입되고, 큰 측쇄(노브)를 갖는 아미노산이 제2 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 중쇄 내로 도입된다. 2개의 항체의 공발현 후에, "홀"을 갖는 중쇄와 "노브"를 갖는 중쇄의 우선적인 상호작용의 결과로서 이종이량체가 형성된다.

[0121] 하나의 CH3 표면에서 양으로 하전된 잔기를, 그리고 제2 CH3 표면에서 음으로 하전된 잔기를 치환함으로써 정전기 상호작용을 사용하여 중쇄 이종이량체화를 촉진하는 것과 같은 다른 전략이 사용될 수 있으며, 이는 미국 특허 출원 공개 제2010/0015133호; 미국 특허 출원 공개 제2009/0182127호; 미국 특허 출원 공개 제2010/028637호 또는 미국 특허 출원 공개 제2011/0123532호에 기재된 바와 같다. 다른 전략에서는, 미국 특허 출원 공개 제2012/0149876호 또는 미국 특허 출원 공개 제2013/0195849호에 기재된 바와 같이 하기의 치환(제1 중쇄의 제1 CH3 도메인 내의 변형된 위치/제2 중쇄의 제2 CH3 도메인 내의 변형된 위치로서 표현됨)에 의해 이종이량체화가 촉진될 수 있다: L351Y_F405AY407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F, 또는 T350V_L351Y_F405A Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W.

[0122] 전술된 방법에 더하여, 본 명세서에 제공된 이중특이성 항체는, 2개의 단일특이성 동종이량체성 항체의 CH3 영역 내에 비대칭 돌연변이를 도입시키고, 이황화물 결합 이성질화를 가능하게 하는 환원성 조건에서 2개의 모 단일특이성 동종이량체성 항체로부터 이중특이성 이종이량체성 항체를 형성함으로써 무세포 환경에서 시험관내에서 생성될 수 있는데, 이는 PCT 특허 출원 공개 WO2011/131746호에 기재된 방법에 따른 것이다. 이들

방법에서, 제1 단일특이성 2가 항체 및 제2 단일특이성 2가 항체는 CH3 도메인에서 이종이량체 안정성을 촉진하는 소정의 치환을 갖도록 조작되며; 이들 항체는 힌지 영역 내의 시스테인이 이황화물 결합 이성질화를 거칠 수 있게 하기에 충분한 환원성 조건 하에서 함께 인큐베이션되고; 그럼으로써 Fab 아암 교환에 의해 이중특이성 항체를 생성한다. 인큐베이션 조건은 선택적으로 비환원성 조건으로 회복될 수 있다. 사용될 수 있는 예시적인 환원제는 2-메르캅토에틸아민(2-MEA), 다이티오트레이톨(DTT), 다이티오에리트리톨(DTE), 글루타티온, 트리스(2-카르복시에틸)포스핀(TCEP), L-시스테인 및 베타-메르캅토에탄올이며, 바람직하게는 2-메르캅토에틸아민, 다이티오트레이톨 및 트리스(2-카르복시에틸)포스핀으로 이루어진 군으로부터 선택되는 환원제이다. 예를 들어, pH 5 내지 8에서, 예를 들어 pH 7.0에서 또는 pH 7.4에서 적어도 25 mM 2-MEA의 존재 하에서 또는 적어도 0.5 mM 다이티오트레이톨의 존재 하에서 적어도 20℃의 온도에서 적어도 90분 동안의 인큐베이션이 사용될 수 있다.

[0123] <u>변이체 Fc 영역을 포함하는 결합 분자</u>

[0124] 일부 실시 형태에서, 향상된 이펙터 기능을 부여하는 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 변이체이다. ADCC를 향상시키기 위한 임의의 알려진 Fc 돌연변이가 본 결합 분자에서 사용될 수 있으며, 이에는, 예를 들어 문헌[Sondermann *et al.*, Nature, 406: 267-273 (2000)]; US8951517B2호; US9714282B2호; 및 US20090208500A1호에 기재된 것들이 포함되지만 이로 한정되지 않으며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다. 예를 들어, Fc 영역의 하나 이상의 돌연변이(들)는 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재할 수 있다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역에는 단지 하나의 아미노산 돌연변이가 존재한다. 다른 실시 형태에서, 본 결합 분자에서의 Fc 영역에 다수의 아미노산 돌연변이, 예컨대 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9개, 또는 그 이상의 아미노산 돌연변이가 존재한다.

[0125] 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 233의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 234의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 235의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 236의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 237의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 238의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 239의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 240의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 241의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 243의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 244의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 245의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 246의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 247의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 248의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 250의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 253의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 254의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 255의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 256의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 258의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 260의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 262의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 263의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 264의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 265의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 266의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 267의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 268의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 268의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 269의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 270의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 272의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 274의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 276의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일

부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 280의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 282의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 283의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 285의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 286의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 288의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 290의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 292의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 293의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 294의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 295의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 296의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 297의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 298의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 299의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 300의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 301의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 303의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 307의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 311의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 312의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 313의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 315의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 317의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 318의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 320의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 322의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 325의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 326의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 327의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 328의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 329의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 330의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 331의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 332의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 333의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 334의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 335의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 337의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 338의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 339의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 340의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 342의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 344의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 345의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 347의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 355의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 356의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 358의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 359의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 360의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 361의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 362의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 373의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 375의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 376의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 378의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 380의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 382의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 383의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 384의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 386의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 388의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 389의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 390의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 391의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 392의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 396의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 398의 위치에 아미노산 돌연

변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 400의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 401의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 413의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 414의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 415의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 416의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 418의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 419의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 421의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 422의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 424의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 428의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 430의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 433의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 434의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 435의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 436의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 437의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 438의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 439의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 440의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 442의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 444의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 Fc 영역은 447의 위치에 아미노산 돌연변이를 포함한다. Fc 영역 내의 상기 언급된 모든 아미노산 위치는 EU 넘버링에 따른다.

[0126] 일부 구체적인 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0127] <u>면역 세포 활성화 도메인을 포함하는 결합 분자</u>

[0128] 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 또한 결합 도메인을 포함하여 결합 분자가 다중특이성(예를 들어, 이중특이성) 결합 분자가 되도록 한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포는 NK 세포이다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시키는 도메인이다.

[0129] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 활성화시키는 수용체를 조절한다. 다른 실시 형태에서, 기능성 도메인은 면역 세포를 억제하는 수용체를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp46에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp30에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp44에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2C에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD94에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DS1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DS4에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DS2에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DL4에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR3DS1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD160에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2D에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp80에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 DNAM1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 2B4에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NTB-A에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기

능성 도메인은 CRACC에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 4-1BB에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 OX40에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CRTAM에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD16에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 LFA1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2A에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DL1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DL2에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DL3에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR3DL1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR3DL2에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 LILRB1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KIR2DL5에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 KLRG1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD161에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 SIGLEC7에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 SIGLEC9에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 LAIR1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TIGIT에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD96에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 PD-1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 PVRIG에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD122에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD132에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD218a에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 CD218b에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 IL12Rb1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 IL12Rb2에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 IL21R에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFBR1에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFBR2에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFBR3에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ACVR2A에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ACVR2B에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ALK4에 결합하고/하거나 이를 조절한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 A2a에 결합하고/하거나 이를 조절한다.

[0130] 일부 구체적인 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0131] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0132] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0133] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0134] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0135] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같

은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0136] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0137] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0138] 일부 실시 형태에서, 기능성 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0139] <u>변이체 Fc 영역 및 면역 세포 활성화 도메인을 포함하는 결합 분자</u>

[0140] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 이펙터 기능, 예컨대 ADCC를 향상시키기 위한 2개 이상의 수단을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 ADCC 향상 Fc 변이체 및 면역 세포를 활성화하기 위한 도메인을 포함하며, 이들 각각은 상기에 더 상세히 기재되어 있으며 하기에 간략하게 기재되어 있다.

[0141] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0142] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NK 세포를 활성화할 수 있다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0143] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0144] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0145] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0146] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0147] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0148] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고,

LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0149] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0150] <u>HSC 결합 도메인</u>

[0151] 본 결합 분자는 HSC 상에서 발현되는 하나 이상의 항원(들)에 결합할 수 있는 하나 이상의 결합 도메인(들)을 포함하며, 이러한 항원에는, 예를 들어 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2가 포함된다.

[0152] 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 5HT1B에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 5HT1F에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 5HT2A에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 5-HT2B에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 5-HT7에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 A2a에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 A2b에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 a1b1 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 a2bi 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 a5b1 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 a6b4 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 a8b1 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 avb1 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 avb3 인테그린에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ACVR2A에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ACVR2B에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 AdipoR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 AdipoR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ADRA1A에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ADRA1B에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 AT1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 AT2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 BAMBI에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 BMPR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 C5aR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CB1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CB2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CCR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CCR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CCR5에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CCR7에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD105에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD112에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD14에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD146에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD155에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD36에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD38에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD40에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD44에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD49e에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD62e에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD73에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD95에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 c-MET에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CXCR3에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CXCR4에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 DDR1에 결합한다.

일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 DDR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 EGFR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ETA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ETB에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 FAP에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 FGFR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 FN에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 gp130에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 GPR91에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ICAM-1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IGF-1R에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IGF-2R에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-10R2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-11RA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-17RA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-20R1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-20R2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-22R1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 IL-6R에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ITGA8에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 LRP에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 MICA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 MICB에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 NCAM에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 NPR-B에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 OB-Ra에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 OB-Rb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 OPRD1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 P2X4에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 P2X7에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 P2Y6에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 p75NTR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PAFR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PAR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PAR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PAR4에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PDGFRA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PDGFRB에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PD-L1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PD-L2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 Ptc에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 RAGE에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 SIRPA에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD47에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 SYP에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TGFBR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TGFBR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TGFBR3에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TLR2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TLR3에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TLR4에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TLR7에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TLR9에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TNFR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TRKB에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 TRKC에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ULBP1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ULPB2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 uPAR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 VACM-1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 VEGFR-1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 VEGFR-2에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 ANTXR1에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CD248에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 CNTFR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 GPC3에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 KCNE4에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 NGFR에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 NPR3에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 PTH-1R에 결합한다.

[0153] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 HSC 결합 도메인은 항체(이의 항원-결합 단편을 포함함)로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 Fab, Fab′, $F(ab')_2$, Fd, 단일쇄 Fv 또는 scFv, 이황화물 연결된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디, IgGΔCH2, 미니바디, $F(ab')_3$, 테트라바디, 트라이아바디, 다이아바디, 단일-도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb^2, $(scFv)_2$, scFv-Fc, 또는 합성 HSC 결합 모듈을 포함한다. 용어 "항체", "면역글로불린", 또는 "Ig"는 본 명세서에서 상호교환 가능하게 사용되며, 가장 넓은 의미로 사용되고, 2개 이상의 온전한 항체로부터 형성된, 예를 들어, 단일클론 항체(효능제, 길항제, 중화 항체, 전장 또는 온전한 단일클론 항체를 포함함), 폴리에피토프 또는 모노에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 다중클론 또는 1가 항체, 다가 항체, 및 다중특이성 항체(예를 들어, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 이중특이성 항체)를 구체적으로 망라한다. 항체는 인간, 인간화, 키메라, 및/또는 친화성 성숙될 수 있을 뿐만 아니라 다른 종, 예를 들어 마우스 및 토끼 등으로부터의 항체일 수 있다. 용어 "항체"는 특이적 분자 항원에 결합할 수 있고 2개의 동일한 폴리펩티드 사슬의 쌍으로 구성된 폴리펩티드의 면역글로불린 부류 내의 B 세포의 폴리펩티드 생성물을 포함하도록 의도되며, 여기서 각각의 쌍은 하나의 중쇄(약 50 내지 70 kDa) 및 하나의 경쇄(약 25 kDa)를 갖고, 각각의 사슬의 각각의 아미노-말단 부분은 약 100 내지 약 130개 이상의 아미노산의 가변 영역을

포함하며, 각각의 사슬의 각각의 카르복시-말단 부분은 불변 영역을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Antibody Engineering (Borrebaeck, ed., 2d ed. 1995)]; 및 문헌[Kuby, Immunology (3d ed. 1997)]을 참조한다. 구체적인 실시 형태에서, 특이적 분자 항원은 폴리펩티드 또는 에피토프를 포함한 본 명세서에 제공된 항체에 의해 결합될 수 있다. 항체는 또한 합성 항체, 재조합적으로 생성된 항체, 낙타화 항체 또는 이들의 인간화 변이체, 인트라바디, 및 항-이디오타입(항-Id) 항체를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "항체"는 또한 상기 중 임의의 것의 Fc 영역 및 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)을 갖는 임의의 결합 분자를 포함하며, 이는 단편이 유래된 항체의 결합 활성의 일부 또는 전부를 유지하는 항체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드의 일부를 지칭한다. 기능성 단편(예를 들어, 항원-결합 단편)의 비제한적인 예는 단일-사슬 Fv(scFv)(예를 들어, 단일특이성, 이중특이성 등을 포함함), Fab 단편, F(ab') 단편, $F(ab)_2$ 단편, $F(ab')_2$ 단편, 다이설파이드-연결된 Fv(dsFv), Fd 단편, Fv 단편, 다이아바디, 트라이아바디, 테트라바디, 및 미니바디를 포함한다. 특히, 본 명세서에 제공된 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 부분, 예를 들어, 항원에 결합하는 항원-결합 부위를 함유하는 항원-결합 도메인 또는 분자(예를 들어, 항체의 하나 이상의 CDR)를 포함한다. 그러한 항체 단편은, 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989)]; 문헌[Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers, ed., 1995)]; 문헌[Huston, *et al.*, 1993, *Cell Biophysics* 22: 189-224]; 문헌[Plückthun and Skerra, 1989, *Meth. Enzymol.* 178: 497-515]; 및 문헌[Day, *Advanced Immunochemistry* (2d ed. 1990)]에서 확인할 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 임의의 부류(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, 및 IgA), 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2)의 면역글로불린 분자일 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 항원에 특이적으로 결합하는 도메인을 가질 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 카파 경쇄를 포함할 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체는 람다 경쇄를 포함할 수 있다. 항체는 효능적 항체 또는 길항적 항체일 수 있다. 예시적인 불변 영역이 표 5에 열거되어 있다(서열 번호 143 내지 154).

[0154] 다른 실시 형태에서, HSC 상에서 발현되는 항원에 결합하는 결합 도메인은 항체로부터 유래되지 않는다. 일부 실시 형태에서, HSC 상에서 발현되는 항원에 결합하는 결합 도메인은 HSC 상에서 발현되는 항원에 결합하는 천연 펩티드(예를 들어, 천연 리간드 또는 천연 수용체)로부터 유래된다.

[0155] **펩티드 링커**

[0156] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 전술된 다양한 도메인들 사이의 하나 이상의 링커를 추가로 포함한다. 본 명세서에 기재된 다양한 도메인들은 펩티드 링커를 통해 서로 융합될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 소정 도메인들은 임의의 펩티드 링커 없이 서로 직접 융합된다. 상이한 도메인들을 연결하는 펩티드 링커들은 동일하거나 상이할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 폴리펩티드는 소정의 도메인들 사이에는 펩티드 링커를 포함하지만, 그 안의 다른 도메인들은 그렇지 않다.

[0157] 본 명세서에 제공된 폴리펩티드 내의 각각의 펩티드 링커는 동일하거나 상이한 길이 및/또는 서열을 가질 수 있다. 각각의 펩티드 링커는 독립적으로 선택되고 최적화될 수 있다. 본 융합 단백질에 사용되는 펩티드 링커(들)의 길이, 가요성의 정도 및/또는 다른 특성들은 하나 이상의 특정 표적 분자에 대한 친화도, 특이성 또는 결합력(avidity)을 포함하지만 이로 한정되지 않는 특성에 약간의 영향을 미칠 수 있다. 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커는 가요성 잔기(예컨대, 글리신 및 세린)를 포함하며, 이로써 인접한 도메인들은 서로에 대해 자유롭게 이동하게 된다. 예를 들어, 글리신-세린 이중체(doublet)가 적합한 펩티드 링커일 수 있다.

[0158] 펩티드 링커는 임의의 적합한 길이를 가질 수 있다. 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커는 적어도 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 50개, 또는 그 이상 중 어느 하나의 아미노산 길이이다. 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커는 약 100, 75, 50, 40, 35, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5개 이하, 또는 그 이하 중 어느 하나의 아미노산 길이이다. 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커의 길이는 약 1개의 아미노산 내지 약 10개의 아미노산, 약 1개의 아미노산 내지 약 20개의 아미노산, 약 1개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 15개의 아미노산, 약 10개의 아미노산 내지 약 25개의 아미노산, 약 5개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산, 약 10개의 아미노산 내지 약 30개의 아미노산 길이, 또는 약 30개의 아미노산 내지 약 50개의 아미노산 중 어느 하나이다.

[0159] 펩티드 링커는 자연 발생 서열 또는 비자연 발생 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 중쇄만으로 구성된 항체의

힌지 영역으로부터 유래된 서열이 링커로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO1996/34103호를 참조한다. 일부 실시 형태에서, 펩티드 링커는 가요성 링커이다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 $(G_xS)_n$ 링커이며, 여기서 x 및 n은 독립적으로 3 내지 12의 정수일 수 있으며, 이에는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 그 이상이 포함된다. 예시적인 가요성 링커는 글리신 중합체 $(G)_n$, 글리신-세린 중합체(예를 들어, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$, $(GGGS)_n$, 및 $(GGGGS)_n$을 포함하며, 여기서 n은 적어도 1의 정수임), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 및 당업계에 알려진 다른 가요성 링커를 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 예시적인 펩티드 링커가 하기 표 3에 열거되어 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 95의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 96의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 97의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 98의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 99의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 100의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 101의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 102의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 103의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 104의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 펩티드 링커는 서열 번호 105의 아미노산 서열을 포함한다.

[0160] 본 발명의 융합 단백질은 전술된 도메인들 사이에 위치된 힌지 도메인을 포함할 수 있다. 힌지 도메인은, 단백질의 2개의 도메인 사이에서 일반적으로 발견되고 단백질의 가요성 및 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 서로에 대한 이동을 가능하게 할 수 있는 아미노산 세그먼트이다.

[0161] 힌지 도메인은 약 10 내지 100개의 아미노산, 예를 들어 약 15 내지 75개의 아미노산, 20 내지 50개의 아미노산, 또는 30 내지 60개의 아미노산 중 어느 하나를 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 적어도 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 또는 75개 중 어느 하나의 아미노산 길이일 수 있다.

[0162] 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 자연 발생 단백질의 힌지 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 자연 발생 단백질의 힌지 도메인의 적어도 일부분이다. 항체, 예컨대 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체의 힌지 도메인이 또한 본 명세서에 기재된 융합 단백질에 사용하기에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 불변 도메인 CH1과 CH2를 연결하는 힌지 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 것이고, 항체의 힌지 도메인 및 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체이다. 일부 실시 형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH3 불변 영역을 포함한다.

[0163] 비자연 발생 펩티드가 또한 본 명세서에 기재된 융합 단백질에 대한 힌지 도메인으로서 사용될 수 있다.

[0164] 당업계에 알려진, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO2016014789호, 국제 특허 출원 공개 WO2015158671호, 국제 특허 출원 공개 WO2016102965호, US20150299317호, 국제 특허 출원 공개 WO2018067992호, US7741465호, 문헌[Colcher *et al.*, *J. Nat. Cancer Inst.* 82: 1191-1197 (1990)], 및 문헌[Bird *et al.*, *Science* 242: 423-426 (1988)]에 기재된 바와 같은 다른 링커가 또한 본 명세서에 제공된 융합 단백질 내에 포함될 수 있으며, 이들 각각의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0165] <u>PDGFRb에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0166] PDGFRb는 HSC 상에서 발현되는 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-PDGFRb 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0167] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 PDGFRb(예를 들어, 인간 PDGFRb)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한

방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0168] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 67 또는 서열 번호 68의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-PDGFRb 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PDGFRb 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0169] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 67에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 68에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0170] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 1과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 2와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 3과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 4와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 5와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 6과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, PDGFRb에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-PDGFRb 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PDGFRb 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0171] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함한다.

[0172] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 67 또는 서열 번호 68의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다. 본 명세서에 기재된 프레임워크 영역은 CDR 넘버링 체계의 경계에 기초하여 결정된다. 다시 말해서, 예를 들어, 카바트, IMGT, 또는 초티아에 의해 CDR이 결정된다면, 프레임워크 영역은, N-말단으로부터 C-말단으로, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4의 형식으로 가변 영역 내의 CDR을 둘러싸는 아미노산 잔기이다. 예를 들어, FR1은, 예를 들어, 카바트 넘버링 체계, IMGT 넘버링 체계, 또는 초티아 넘버링 체계에 의해 정의되는 바와 같이 CDR1 아미노산 잔기에 대해 N-말단인 아미노산 잔기로서 정의되고, FR2는, 예를 들어, 카바트 넘버링 체계, IMGT 넘버링 체계, 또는 초티아 넘버링 체계에 의해 정의되는 바와 같이 CDR1 및 CDR2 아미노산 잔기 사이의 아미노산 잔기로서 정의되고, FR3은, 예를 들어, 카바트 넘버링 체계, IMGT 넘버링 체계, 또는 초티아 넘버링 체계에 의해 정의되는 바와 같이 CDR2 및 CDR3 아미노산 잔기 사이의 아미노산 잔기로서 정의되고, FR4는, 예를 들어, 카바트 넘버링 체계, IMGT 넘버링 체계, 또는 초티아 넘버링 체계에 의해 정의되는 바와 같이 CDR3 아미노산 잔기에 대해 C-말단인 아미노산 잔기로서 정의된다.

[0173] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0174] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0175] 2개의 서열(예를 들어, 아미노산 서열 또는 핵산 서열) 사이의 퍼센트 동일성의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성할 수 있다. 2개의 서열의 비교에 이용되는 수학적 알고리즘의 비제한적인 예는 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268 (1990)]의 알고리즘이며, 이는 문헌[Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877 (1993)]에서와 같이 변형된 것이다. 그러한 알고리즘은 문헌[Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403 (1990)]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 통합되어 있다. 예를 들어, 점수=100, 단어 길이=12에 대해 설정된 NBLAST 뉴클레오티드 프로그램 파라미터로 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행하여 본 명세서에 기재된 핵산 분자와 상동성인 뉴클레오티드 서열을 얻을 수 있다. 예를 들어, 점수 50, 단어 길이=3으로 설정된 XBLAST 프로그램 파라미터로 BLAST 단백질 검색을 수행하여 본 명세서에 기재된 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 얻을 수 있다. 비교 목적을 위한 갭 정렬을 얻기 위해, 문헌[Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. 25:3389 3402 (1997)]에 기재된 바와 같이 갭 BLAST를 이용할 수 있다. 대안적으로, PSI BLAST를 사용하여 분자 사이의 원거리 관계(*Id.*)를 검출하는 반복된 검색을 수행할 수 있다. BLAST, 갭 BLAST, 및 PSI Blast 프로그램을 이용할 경우, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다(예를 들어, 월드와이드 웹, ncbi.nlm.nih.gov 상의 미국 국립 생물 정보 센터(NCBI) 참조). 서열의 비교에 이용되는 수학적 알고리즘의 다른 바람직한 비제한적인 예는 문헌[Myers and Miller, CABIOS 4: 11-17 (1998)]의 알고리즘이다. 그러한 알고리즘은 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 포함되며, 이는 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 일부이다. 아미노산 서열을 비교하기 위한 ALIGN 프로그램을 이용할 경우, PAM120 가중치 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티, 및 4의 갭 페널티가 사용될 수 있다. 갭을 허용하거나 허용하지 않으면서 상기 기재된 것들과 유사한 기법을 사용하여 2개의 서열 사이의 % 동일성을 결정할 수 있다. % 동일성의 계산에서는, 전형적으로 정확한 일치만이 계수된다.

[0176] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-PDGFRb 항체는 PDGFRb에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0177] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 67의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 PDGFRb에 결합한다.

[0178] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체와의 상호작용에 필요한 PDGFRb 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, PDGFRb에 결합된 항-PDGFRb 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-PDGFRb 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PDGFRb 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0179] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-PDGFRb 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 PDGFRb에 특이적으로 결합하는 항-PDGFRb 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PDGFRb 항체와 경쟁적으로 PDGFRb에 특이적으로 결합한다.

[0180] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-PDGFRb 항체 중 어느 하나를 포함하는 PDGFRb 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, PDGFRb 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PDGFRb 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실

시 형태에서, PDGFRb 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, PDGFRb 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-PDGFRb 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 PDGFRb 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0181] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-PDGFRb 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0182] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0183] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0184] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0185] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0186] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0187] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3

을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0188] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0189] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0190] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0191] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4, 표 6 및 표 7에 나타낸 바와 같다.

[0192] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 106의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 107의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0193] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 126의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 127의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0194] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 155의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 156의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0195] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 157의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 158의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0196] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 159의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 160의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0197] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 161의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 162의 아미노산 서

열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0198] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 163의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 164의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0199] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 165의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 166의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0200] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 167의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 168의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0201] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 169의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 170의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0202] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 171의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 172의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0203] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 173의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 174의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0204] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 175의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 176의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0205] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 177의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 178의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0206] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 179의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 180의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0207] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 181의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 182의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0208] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 183의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 184의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0209] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 185의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 186의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0210] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 187의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 188의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0211] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 189의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 190의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0212] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 191의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 192의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0213] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 193의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0214] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 195의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 196의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0215] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 197의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 198의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0216] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 199의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 200의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0217] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 201의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0218] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 203의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 204의 아미노산 서

열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0219] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 205의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 206의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0220] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 207의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 208의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0221] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 209의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 210의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0222] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 211의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 212의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0223] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 213의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 214의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0224] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 215의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, 서열 번호 216의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, 및 서열 번호 217의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0225] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 218의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, 서열 번호 219의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, 및 서열 번호 220의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0226] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 221의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 222의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0227] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 223의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 224의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0228] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, 서열 번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, 및 서열 번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0229] <u>SIRPA에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0230] SIRPA는 HSC 상에서 발현되는 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-SIRPA 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0231] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 SIRPA(예를 들어, 인간 SIRPA)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0232] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 69 내지 74의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-SIRPA 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-SIRPA 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0233] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 69에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 70에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 71에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 72에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 73에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 74에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0234] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 7, 13, 및 19 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 8, 14 및 20 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 9, 15, 및 21 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 10, 16, 및 22 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 11, 17, 및 23 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 12, 18, 및 24 중 어느 하나와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, SIRPA에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-SIRPA 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-SIRPA 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0235] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 24의 아미노산 서열을 포함한다.

[0236] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 69 내지 74의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0237] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0238] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0239] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0240] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0241] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-SIRPA 항체는 SIRPA에 결합하는 능력을 유지한다. 일부

실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0242] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 69의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 SIRPA에 결합한다.

[0243] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 71의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 SIRPA에 결합한다.

[0244] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 73의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 SIRPA에 결합한다.

[0245] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체와의 상호작용에 필요한 SIRPA 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, SIRPA에 결합된 항-SIRPA 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-SIRPA 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0246] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-SIRPA 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 SIRPA에 특이적으로 결합하는 항-SIRPA 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 경쟁적으로 SIRPA에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 경쟁적으로 SIRPA에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-SIRPA 항체와 경쟁적으로 SIRPA에 특이적으로 결합한다.

[0247] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-SIRPA 항체 중 어느 하나를 포함하는 SIRPA 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, SIRPA 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-SIRPA 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, SIRPA 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, SIRPA 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-SIRPA 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 SIRPA 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0248] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-SIRPA 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바

와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0249] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0250] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0251] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0252] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0253] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0254] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는

서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0255] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0256] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0257] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0258] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0259] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 108의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 109의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0260] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 110의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 111의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0261] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 112의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 113의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0262] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 128의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 129의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0263] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 130의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 131의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0264] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 132의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 133의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0265] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 134의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 135의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0266] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 136의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 137의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0267] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 291의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 292의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0268] <u>FAPα에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0269] FAPα는 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-FAPα 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0270] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 FAPα(예를 들어, 인간 FAPα)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0271] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 75 내지 78의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-FAPα 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-FAPα 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0272] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 75에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 76에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 77에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 78에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0273] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 25 또는 31과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 26 또는 32와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 27 또는 33과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 28 또는 34와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 29 또는 35와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 30 또는 36과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, FAPα에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-FAPα 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-FAPα 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0274] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 25의 아

미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함한다.

[0275] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 75 내지 78의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0276] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0277] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0278] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0279] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-FAPα 항체는 FAPα에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0280] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 75의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 FAPα에 결합한다.

[0281] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 77의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 FAPα에 결합한다.

[0282] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체와의 상호작용에 필요한 FAPα 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, FAPα에 결합된 항-FAPα 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-FAPα 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-FAPα 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-FAPα 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0283] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-FAPα 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 FAPα에 특이적으로 결합하는 항-FAPα 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-FAPα 항체와 경쟁적으로 FAPα에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-FAPα 항체와 경쟁적으로 FAPα에 특이적으로 결합한다.

[0284] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-FAPα 항체 중 어느 하나를 포함하는 FAPα 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, FAPα 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-FAPα 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, FAPα 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, FAPα 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-FAPα 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 FAPα 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0285] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-FAPα 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0286] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0287] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0288] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0289] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0290] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0291] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0292] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0293] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0294] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0295] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0296] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 114의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 115의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0297] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 116의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 117의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0298] <u>PD-L1에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0299] PD-L1은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-PD-L1 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0300] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1

nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 PD-L1(예를 들어, 인간 PD-L1)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0301] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 79 및 80의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-PD-L1 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PD-L1 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0302] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 79에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 80에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0303] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 37과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 38과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 39와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 40과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 41과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 42와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, PD-L1에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-PD-L1 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PD-L1 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0304] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 37의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함한다.

[0305] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 79 및 80의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0306] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0307] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0308] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-PD-L1 항체는 PD-L1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부

실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0309] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 79의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 PD-L1에 결합한다.

[0310] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체와의 상호작용에 필요한 PD-L1 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, PD-L1에 결합된 항-PD-L1 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-PD-L1 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-L1 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0311] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-PD-L1 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 PD-L1에 특이적으로 결합하는 항-PD-L1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-PD-L1 항체와 경쟁적으로 PD-L1에 특이적으로 결합한다.

[0312] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-PD-L1 항체 중 어느 하나를 포함하는 PD-L1 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, PD-L1 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-PD-L1 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, PD-L1 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, PD-L1 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-PD-L1 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 PD-L1 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0313] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-PD-L1 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0314] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0315] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0316] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1,

KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0317] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0318] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0319] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0320] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0321] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0322] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0323] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0324] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 118의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 119의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0325] <u>uPAR에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0326] uPAR은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-uPAR 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0327] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 uPAR(예를 들어, 인간 uPAR)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0328] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 81 및 82의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-uPAR 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-uPAR 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0329] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 81에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 82에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0330] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 43과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 44와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 45와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 46과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서

열 번호 47과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 48과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, uPAR에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-uPAR 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-uPAR 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0331] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 45의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 48의 아미노산 서열을 포함한다.

[0332] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 81 및 82의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0333] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0334] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0335] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-uPAR 항체는 uPAR에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0336] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 81의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 uPAR에 결합한다.

[0337] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체와의 상호작용에 필요한 uPAR 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, uPAR에 결합된 항-uPAR 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-uPAR 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-uPAR 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0338] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-uPAR 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 uPAR에 특이적으로 결합하는 항-uPAR 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-uPAR 항체와 경쟁적으로 uPAR에 특이적으로 결합한다.

[0339] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-uPAR 항체 중 어느 하나를 포함하는 uPAR 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, uPAR 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-uPAR 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, uPAR 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, uPAR 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-uPAR 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 uPAR 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0340] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-uPAR 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0341] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0342] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0343] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0344] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0345] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0346] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호

66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0347] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0348] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0349] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0350] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0351] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 120의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 121의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0352] <u>IGF-1R에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0353] IGF-1R은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-IGF-1R 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0354] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-IGF-1R 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 IGF-1R(예를 들어, 인간 IGF-1R)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0355] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-IGF-1R 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실

시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 83 내지 86의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-IGF-1R 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-IGF-1R 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0356] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 83에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 84에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 85에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 86에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0357] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 49 또는 55와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 50 또는 56과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 51 또는 57과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 52 또는 58과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 53 또는 59와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 54 또는 60과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, IGF-1R에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-IGF-1R 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-IGF-1R 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0358] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 51의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 52의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 53의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함한다.

[0359] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 57의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 59의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 60의 아미노산 서열을 포함한다.

[0360] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 83 내지 86의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0361] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0362] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0363] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-IGF-1R 항체는 IGF-1R에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서

에 제공된 항-IGF-1R 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0364] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 83의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 IGF-1R에 결합한다.

[0365] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 85의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 IGF-1R에 결합한다.

[0366] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-IGF-1R 항체와의 상호작용에 필요한 IGF-1R 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, IGF-1R에 결합된 항-IGF-1R 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-IGF-1R 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-IGF-1R 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-IGF-1R 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0367] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-IGF-1R 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 IGF-1R에 특이적으로 결합하는 항-IGF-1R 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-IGF-1R 항체와 경쟁적으로 IGF-1R에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-IGF-1R 항체와 경쟁적으로 IGF-1R에 특이적으로 결합한다.

[0368] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-IGF-1R 항체 중 어느 하나를 포함하는 IGF-1R 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, IGF-1R 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-IGF-1R 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, IGF-1R 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-IGF-1R 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, IGF-1R 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-IGF-1R 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 IGF-1R 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0369] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-IGF-1R 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0370] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를

포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0371] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0372] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0373] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0374] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0375] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0376] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0377] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및

LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0378] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0379] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0380] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 122의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 123의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0381] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 124의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 125의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0382] <u>ANTXR1에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0383] ANTXR1은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-ANTXR1 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0384] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 ANTXR1(예를 들어, 인간 ANTXR1)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0385] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 225, 226, 233, 및 234의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-ANTXR1 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-ANTXR1 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0386] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 225에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 226에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실

시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 233에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 234에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0387] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 227 또는 235와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 228 또는 236과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 229 또는 237과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 230 또는 238과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 231 또는 239와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 232 또는 240과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, ANTXR1에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-ANTXR1 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-ANTXR1 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0388] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 227의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 228의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 229의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 230의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 231의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 236의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 237의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 포함한다.

[0389] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 225, 226, 233, 및 234의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0390] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0391] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 234의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0392] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0393] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-ANTXR1 항체는 ANTXR1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0394] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 225의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 ANTXR1에 결합한다.

[0395] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 233의 아미노산 서열과 적어도

75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 234의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 ANTXR1에 결합한다.

[0396] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체와의 상호작용에 필요한 ANTXR1 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, ANTXR1에 결합된 항-ANTXR1 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-ANTXR1 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-ANTXR1 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 234의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-ANTXR1 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0397] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-ANTXR1 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 ANTXR1에 특이적으로 결합하는 항-ANTXR1 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-ANTXR1 항체와 경쟁적으로 ANTXR1에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 234의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-ANTXR1 항체와 경쟁적으로 ANTXR1에 특이적으로 결합한다.

[0398] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-ANTXR1 항체 중 어느 하나를 포함하는 ANTXR1 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, ANTXR1 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-ANTXR1 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, ANTXR1 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, ANTXR1 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-ANTXR1 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 ANTXR1 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0399] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-ANTXR1 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0400] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0401] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0402] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1,

KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0403] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0404] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0405] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0406] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0407] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0408] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0409] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0410] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 281의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 282의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0411] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 283의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 284의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0412] <u>CD248에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0413] CD248은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-CD248 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0414] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 CD248(예를 들어, 인간 CD248)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al.*, 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0415] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 241, 242, 249, 및 250의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-CD248 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-CD248 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0416] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 241에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 242에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 249에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 250에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0417] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 243 또는 251과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 244 또는 252와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%,

97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 245 또는 253과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 246 또는 254와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 247 또는 255와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 248 또는 256과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, CD248에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-CD248 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-CD248 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0418] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 243의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 244의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 245의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 246의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 247의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 248의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 251의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 252의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 253의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 254의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 255의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 256의 아미노산 서열을 포함한다.

[0419] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 241, 242, 249, 및 250의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0420] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0421] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0422] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0423] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-CD248 항체는 CD248에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0424] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 241의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 CD248에 결합한다.

[0425] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 249의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 CD248에 결합한다.

[0426] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체와의 상호작용에 필요한 CD248 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, CD248에 결합된 항-CD248 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시

형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-CD248 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-CD248 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-CD248 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0427] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD248 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 CD248에 특이적으로 결합하는 항-CD248 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-CD248 항체와 경쟁적으로 CD248에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-CD248 항체와 경쟁적으로 CD248에 특이적으로 결합한다.

[0428] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-CD248 항체 중 어느 하나를 포함하는 CD248 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, CD248 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-CD248 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, CD248 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, CD248 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-CD248 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 CD248 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0429] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-CD248 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0430] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0431] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0432] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0433] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은

ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0434] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0435] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0436] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0437] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0438] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고,

LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0439] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0440] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 285의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 286의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0441] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 287의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 288의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0442] <u>GPC3에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0443] GPC3은 HSC 상에서 발현되는 또 다른 예시적인 항원이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서 HSC를 표적화하는 결합 도메인은 하기에 기재된 항-GPC3 항체 또는 이의 변이체를 포함한다.

[0444] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체는 ≤ 1 μM, ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, ≤ 0.1 nM, ≤ 0.01 nM, 또는 ≤ 0.001 nM(예를 들어, 10^{-8} M 이하, 예를 들어 10^{-8} M 내지 10^{-13} M, 예를 들어 10^{-9} M 내지 10^{-13} M)의 해리 상수(K_D)로 GPC3(예를 들어, 인간 GPC3)에 결합한다. 결합 친화도를 측정하는 다양한 방법이 당업계에 알려져 있으며, 이들 중 임의의 것이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있으며, 이에는 RIA에 의한 방법 - 예를 들어, 관심 항체의 Fab 버전 및 이의 항원을 사용하여 수행됨(문헌[Chen *et al*., 1999, J. Mol Biol 293: 865-81]) -; 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정 - 예를 들어 Octet® Red96 시스템을 사용하여 Octet®에 의해, 또는, 예를 들어 Biacore®TM-2000 또는 Biacore®TM-3000을 사용하여 Biacore®에 의해 - 이 포함된다. "온-속도" 또는 "결합의 속도" 또는 "결합 속도" 또는 "kon"이 또한, 예를 들어 Octet®Red96, Biacore®TM-2000, 또는 Biacore®TM-3000 시스템을 사용하는 전술된 것과 동일한 생물층 간섭측정법(BLI) 또는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기법으로 결정될 수 있다.

[0445] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체는 하기 섹션 7에 기재된 것들이다. 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 서열 번호 257 및 258의 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, 항-GPC3 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-GPC3 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0446] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 257에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 258에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다.

[0447] 다른 실시 형태에서, 서열 번호 259와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1; (ii) 서열 번호 260과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2; (iii) 서열 번호 261과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3; (iv) 서열 번호 262와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1; (v) 서열 번호 263과 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2; 및/또는 (vi) 서열 번호 264와 적어도 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함하는, GPC3에 결합하는 항체가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항-GPC3 항체는 인간화 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-GPC3 항체는 수용자 인간 프레임워크, 예를 들어 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크를 포함한다.

[0448] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편에서, HCDR1은 서열 번호 259의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 260의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 261의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 262의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 263의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 264의 아미노산 서열을 포함한다.

[0449] 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 257 및 258의 하나 이상의 프레임워크 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 인간화 항체이다.

[0450] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0451] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 본 명세서에 제공된 임의의 항체, 예를 들어 하기 섹션 7에 기재된 것들에 대해 소정의 퍼센트 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0452] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 참조 서열과 대비하여 치환(예를 들어, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 함유하지만, 그러한 서열을 포함하는 항-GPC3 항체는 GPC3에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 실시 형태에서, 참조 아미노산 서열에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환, 삽입 및/또는 결실되었다. 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실은 CDR 외부의 영역에서(즉, FR에서) 발생한다. 선택적으로, 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체는 참조 서열의 번역 후 변형을 포함한다.

[0453] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 257의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 VL 도메인을 포함하며, 항체 또는 항원-결합 단편은 GPC3에 결합한다.

[0454] 일부 실시 형태에서, 예를 들어 조합 알라닌 스캐닝에 의해 기능적 에피토프를 맵핑하여, 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체와의 상호작용에 필요한 GPC3 단백질 내의 아미노산을 확인할 수 있다. 일부 실시 형태에서, GPC3에 결합된 항-GPC3 항체의 입체형태 및 결정 구조가 에피토프를 확인하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 제공된 임의의 항-GPC3 항체와 동일한 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-GPC3 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0455] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항-GPC3 항체 중 어느 하나와 경쟁적으로 GPC3에 특이적으로 결합하는 항-GPC3 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 항원-결합 단편은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항-GPC3 항체와 경쟁적으로 GPC3에 특이적으로 결합한다.

[0456] 일부 실시 형태에서, 전술된 항-GPC3 항체 중 어느 하나를 포함하는 GPC3 결합 단백질이 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, GPC3 결합 단백질은 마우스 항체, 키메라 항체, 인간화 항체 또는 인간 항체를 포함한 단일클론 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항-GPC3 항체는 항체 단편, 예를 들어 scFv이다. 일부 실시 형태에서, GPC3 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체를 포함하는 융합 단백질이다. 다른 실시 형태에서, GPC3 결합 단백질은 본 명세서에 제공된 항-GPC3 항체를 포함하는 다중특이성 항체이다. 다른 예시적인 GPC3 결합 분자가 하기 섹션에 더 상세히 기재되어 있다.

[0457] 일부 실시 형태에서, 임의의 상기 실시 형태에 따른 항-GPC3 항체 또는 항원-결합 단백질은 하기에 기재된 바와 같은 임의의 특징을 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0458] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373,

375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0459] 일부 실시 형태에서, 전술된 항체는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0460] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0461] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0462] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0463] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0464] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면

역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0465] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0466] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0467] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0468] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 289의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬 및 서열 번호 290의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0469] <u>NKG2D 리간드에 결합하는 예시적인 결합 분자</u>

[0470] 소정 실시 형태에서, HSC 항원 그 자체에 결합하는 결합 도메인은 항체가 아니거나 항체로부터 유래되지 않는다. 일부 실시 형태에서, HSC 항원에 결합하는 결합 도메인은 HSC 상의 세포 표면 항원에 결합하는 천연 리간드 또는 수용체로부터 유래된다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, HSC 상에서 발현되는 항원은 NKG2D 리간드, 예컨대 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2이다. 일부 실시 형태에서, 본 결합 분자에서의 결합 도메인은 NKG2D 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 89의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 서열 번호 89와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0471] 일부 실시 형태에서, 결합 도메인은 (직접 또는 펩티드 링커를 통해) 향상된 ADCC를 갖는 Fc 변이체에 융합된다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 S239D/A330L/I332E 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L 돌연변이를 포함한다. 일부 실시 형태에서, Fc 영역은 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함한다.

[0472] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 결합 분자는 NK 세포를 활성화할 수 있는 면역 세포 활성화 도메인을 포함한다. 면역 활성화 도메인은, 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제함으로써 면역 세포를 활성화시킬 수 있다.

[0473] 면역 세포 활성화 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절할 수 있다. 예시적인 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0474] 일부 구체적인 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICA의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 MICB의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP1의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이다.

[0475] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 90과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 91과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 92와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 93과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0476] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 NKp46에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0477] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 서열 번호 94와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0478] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 TIGIT에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태

에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0479] 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합한다. 일부 실시 형태에서, 면역 세포 활성화 도메인은 PVRIG에 결합하는 항체(항원-결합 단편을 포함함)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함한다. CDR 서열은 잘 알려진 넘버링 체계 또는 이들의 조합에 따라 결정될 수 있다. 일부 실시 형태에서, CDR은 IMGT 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 카바트 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, CDR은 AbM 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 초티아 넘버링에 따른다. 다른 실시 형태에서, CDR은 Contact 넘버링에 따른다. 일부 실시 형태에서, HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다.

[0480] 일부 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 표 4에 나타낸 바와 같다.

[0481] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 138의 아미노산 서열을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 139의 아미노산 서열을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 140의 아미노산 서열을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 141의 아미노산 서열을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 142의 아미노산 서열을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0482] 구체적인 실시 형태에서, 서열 번호 297의 아미노산 서열을 포함하는 제1 사슬, 서열 번호 298의 아미노산 서열을 포함하는 제2 사슬, 및 서열 번호 299의 아미노산 서열을 포함하는 제3 사슬을 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다.

[0483] <u>인간화 항체</u>

[0484] 본 명세서에 기재된 항체는 인간화 항체를 포함한다. 인간화 항체, 예컨대 본 명세서에 개시된 인간화 항체는 CDR-그래프팅(유럽 특허 EP 239, 400호; 국제 특허 출원 공개 WO 91/09967호; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호, 및 제5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(유럽 특허 EP 592,106호 및 EP 519,596호; 문헌[Padlan, Molecular Immunology 28 (4/5) : 489-498 (1991)]; 문헌[Studnicka *et al.*, Protein Engineering 7 (6) : 805-814 (1994)]; 및 문헌[Roguska *et al.*, PNAS 91: 969-973 (1994)], 사슬 셔플링(chain shuffling)(미국 특허 제5,565,332호), 및 예를 들어 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, 국제 특허 출원 공개 WO 9317105호, 문헌[Tan *et al.*, J. Immunol. 169: 1119 25 (2002)], 문헌[Caldas *et al.*, Protein Eng. 13 (5) : 353-60 (2000)], 문헌[Morea *et al.*, Methods 20 (3) : 267 79 (2000)], 문헌[Baca *et al.*, J. Biol. Chem. 272 (16) : 10678-84 (1997)], 문헌[Roguska *et al.*, Protein Eng. 9(10) : 895 904 (1996)], 문헌[Couto *et al.*, Cancer Res. 55 (23 Supp) : 5973s-5977s (1995)], 문헌[Couto *et al.*, Cancer Res. 55 (8) : 1717-22 (1995)], 문헌[Sandhu JS, Gene 150 (2) : 409-10 (1994)], 및 문헌[Pedersen *et al.*, J. Mol. Biol. 235 (3) : 959-73 (1994)]에 개시된 기법을 포함하지만 이로 한정되지 않는 당업계에 알려진 다양한 기법을 사용하여 생성될 수 있다. 미국 특허 출원 공개 제2005/0042664 A1호(2005년 2월 24일)를 또한 참조하며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0485] 비인간 항체를 인간화하기 위한 다양한 방법이 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 인간화 항체는 비인간 공급원으로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기가 그 안으로 도입될 수 있다. 이들 비인간 아미노산 잔기는 종종 "유입" 잔기로 지칭되는데, 이는 전형적으로 "유입" 가변 도메인으로부터 받아들여진다. 예를 들어, 문헌[Jones *et al.*, Nature 321: 522-25 (1986)]; 문헌[Riechmann *et al.*, Nature 332: 323-27 (1988)]; 및 문헌[Verhoeyen *et al.*, Science 239: 1534-36 (1988)]의 방법에 따라 인간 항체의 상응하는 서열을 대신하여 초가변 영역 서열로 치환함으로써 인간화가 수행될 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체의 인간화는 하기 섹션 6에 기재된 바와 같이 수행된다.

[0486] 일부 경우에, 인간화 항체는 CDR 그래프팅에 의해 작제되며, 여기서는 모 비인간 항체의 CDR의 아미노산 서열이 인간 항체 프레임워크 상에 그래프팅된다. 예를 들어, Padlan *et al.*은 CDR 내의 잔기의 약 1/3만이 항원과 실제로 접촉하는 것으로 판단하였으며, 이들을 "특이성 결정 잔기" 또는 SDR이라고 칭하였다(문헌[Padlan *et al.*, FASEB J. 9: 133-39 (1995)]). SDR 그래프팅의 기법에서는, 단지 SDR 잔기만이 인간 항체 프레임워크 상에 그래프팅된다(예를 들어, 문헌[Kashmiri *et al.*, Methods 36: 25-34 (2005)] 참조).

[0487] 인간화 항체를 제조하는 데 사용되는 인간 가변 도메인의 선택은 항원성(antigenicity)을 감소시키는 데 중요할 수 있다. 예를 들어, 이른바 "최적-적합(best-fit)" 방법에 따라, 비인간 항체의 가변 도메인의 서열이, 알려진 인간 가변 도메인 서열의 전체 라이브러리에 대해 스크리닝된다. 비인간 항체의 것에 가장 가까운 인간 서열은 인간화 항체에 대한 인간 프레임워크로서 선택될 수 있다(문헌[Sims *et al.*, J. Immunol. 151: 2296-308 (1993)]; 및 문헌[Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196: 901-17 (1987)]). 다른 방법은 모든 인간 항체의 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위그룹의 컨센서스 서열로부터 유래되는 특정 프레임워크를 사용한다. 동일한 프레임워크가 몇몇 상이한 인간화 항체에 사용될 수 있다(문헌[Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 4285-89 (1992)]; 및 문헌[Presta *et al.*, J. Immunol. 151: 2623-32 (1993)]). 일부 경우에, 프레임워크는 가장 풍부한 인간 하위부류, V_L6 하위군 I(V_L6I) 및 V_H 하위군 III(V_HIII)의 컨센서스 서열로부터 유래된다. 다른 방법에서는, 인간 생식세포계열 유전자가 프레임워크 영역의 공급원으로서 사용된다.

[0488] 초인간화로 불리는, CDR들의 비교에 기초한 대안적인 패러다임에서는, FR 상동성이 비관련되어 있다. 상기 방법은 비인간 서열과 기능성 인간 생식세포계열 유전자 레퍼토리의 비교로 이루어진다. 이어서, 뮤린 서열과 동일하거나 밀접하게 관련된 표준 구조를 인코딩하는 유전자를 선택한다. 다음으로, 비인간 항체와 표준 구조를 공유하는 유전자 내에서, CDR 내에서 가장 높은 상동성을 갖는 것들이 FR 공여체로서 선택된다. 마지막으로, 비인간 CDR은 이들 FR 상에 그래프팅된다(예를 들어, 문헌[Tan *et al.*, J. Immunol. 169: 1119-25 (2002)] 참조).

[0489] 항체는 항원에 대한 그들의 친화도를 보유하고 다른 유리한 생물학적 특성을 갖도록 인간화되는 것이 추가로 일반적으로 바람직하다. 이러한 목적을 달성하기 위하여, 한 가지 방법에 따르면, 인간화 항체는 모 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 사용하여 모 서열 및 다양한 개념적(conceptual) 인간화 생성물을 분석하는 과정에 의해 제조된다. 3차원 면역글로불린 모델은 일반적으로 이용가능하며 당업자에게 익숙하다. 선택된 후보 면역글로불린 서열의 가능한 3차원 입체형태 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램이 이용가능하다. 이들은, 예를 들어 WAM(문헌[Whitelegg and Rees, Protein Eng. 13:819-24 (2002)]), Modeller(문헌[Sali and Blundell, J. Mol. Biol. 234:779-815 (1993)]), 및 Swiss PDB Viewer(문헌[Guex and Peitsch, Electrophoresis 18:2714-23 (1997)])를 포함한다. 이들 디스플레이에 대한 조사는 후보 면역글로불린 서열의 기능에 있어서의 잔기의 가능성이 있는 역할의 분석, 예를 들어 후보 면역글로불린이 그의 항원과 결합하는 능력에 영향을 주는 잔기의 분석을 가능하게 한다. 이러한 방식으로, FR 잔기가 수용자 서열 및 유입 서열로부터 선택 및 조합되어, 원하는 항체 특성, 예컨대 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화도가 달성되도록 할 수 있다. 일반적으로, 초가변 영역 잔기는 직접적이고 가장 실질적으로 항원 결합에 영향을 준다.

[0490] 항체 인간화를 위한 다른 방법은 인간 스트링 함량(Human String Content, HSC)으로 불리는 항체 인간도(antibody humanness)의 메트릭에 기초한다. 이 방법은 마우스 서열을 인간 생식세포계열 유전자의 레퍼토리와 비교하고, 그 차이를 HSC로 점수 매긴다. 이어서, 글로벌 동일성 척도를 사용하여 다수의 다양한 인간화 변이체를 생성하기보다 HSC를 최대화함으로써 표적 서열을 인간화한다(문헌[Lazar *et al.*, Mol. Immunol. 44: 1986-98 (2007)]).

[0491] 전술된 방법에 더하여, 인간화 항체를 생성하고 선택하는 데 경험적 방법이 사용될 수 있다. 이들 방법은 인간화 변이체들의 큰 라이브러리의 생성 및 풍부화 기술 또는 고처리량 스크리닝 기법을 사용한 최상의 클론의 선택에 기초한 것들을 포함한다. 항체 변이체는 파지, 리보솜, 및 효모 디스플레이 라이브러리로부터 단리될 수 있을 뿐만 아니라 세균 콜로니 스크리닝에 의해 단리될 수 있다(예를 들어, 문헌[Hoogenboom, Nat. Biotechnol. 23:1105-16 (2005)]; 문헌[Dufner *et al.*, Trends Biotechnol. 24:523-29 (2006)]; 문헌[Feldhaus *et al.*, Nat. Biotechnol. 21:163-70 (2003)]; 및 문헌[Schlapschy *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. 17:847-60 (2004)] 참조).

[0492] FR 라이브러리 접근법에서는, 잔기 변이체들의 집합체(collection)를 FR 내의 특정 위치들에 도입시킨 후, 라이브러리를 스크리닝하여, 이식된 CDR을 최상으로 지지하는 FR을 선택한다. 치환될 잔기는 CDR 구조에 잠재적으로 기여하는 것으로 확인되거나(예를 들어, 문헌[Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224: 487-99 (1992)] 참

조), 또는 문헌[Baca *et al*. J. Biol. Chem. 272: 10678-84 (1997)]에 의해 확인된 표적 잔기들의 더 제한된 세트로부터 확인된 "베르니어(Vernier)" 잔기들 중 일부 또는 전부를 포함할 수 있다.

[0493] FR 셔플링에서는, 선택된 잔기 변이체들의 조합 라이브러리를 생성하는 것 대신에 전체 FR을 비인간 CDR과 조합한다(예를 들어, 문헌[Dall'Acqua *et al*., Methods 36:43-60 (2005)] 참조). 1-단계 FR 셔플링 공정이 사용될 수 있다. 그러한 공정은, 생성된 항체가 향상된 발현, 증가된 친화도, 및 열 안정성을 포함한 개선된 생화학적 및 물리화학적 특성을 나타내었기 때문에 효율적인 것으로 밝혀져 있다(예를 들어, 문헌[Damschroder *et al*., Mol. Immunol. 44:3049-60 (2007)] 참조).

[0494] 이러한 "인간조작(humaneering)" 방법은 필수적인 최소 특이성 결정인자(minimum specificity determinant, MSD)의 실험적 확인에 기초하고, 인간 FR의 라이브러리 내로의 비인간 단편의 순차적인 대체 및 결합의 평가에 기초한다. 이 방법은 전형적으로 별개의 인간 V-세그먼트 CDR을 갖는 다수의 하위부류로부터 유래되는 항체들의 에피토프 보유 및 확인을 가져온다.

[0495] 이러한 "인간 조작" 방법은 항체의 아미노산 서열에 특정 변화를 주어서, 인간에서 감소된 면역원성을 가짐에도 불구하고 원래의 비인간 항체의 바람직한 결합 특성을 보유하는 변형된 항체를 생성하도록 함으로써, 비인간 항체 또는 항체 단편을 변경시키는 것을 수반한다. 일반적으로, 이러한 기법은 비인간 항체의 아미노산 잔기를 "저위험", "중간 위험", 또는 "고위험" 잔기로서 분류하는 것을 수반한다. 이러한 분류는 특정 치환이 가져올 예측된 이익(예를 들어, 인간에서의 면역원성을 위함)을, 그러한 치환이, 생성되는 항체의 접힘에 영향을 미치게 될 위험과 대비하여 평가하는 전반적인 위험/보상 계산을 사용하여 수행된다. 비인간 항체 서열의 주어진 위치(예를 들어, 저위험 또는 중간 위험)에서 치환될 특정 인간 아미노산 잔기는 비인간 항체의 가변 영역으로부터 유래되는 아미노산 서열을 특정 또는 컨센서스 인간 항체 서열의 상응하는 영역과 정렬시킴으로써 선택될 수 있다. 비인간 서열에서 저위험 또는 중간 위험 위치에 있는 아미노산 잔기는 정렬에 따라 인간 항체 서열 내의 상응하는 잔기로 치환될 수 있다. 인간 조작된 단백질을 제조하기 위한 기법이 문헌[Studnicka *et al*., Protein Engineering 7:805-14 (1994)]; 미국 특허 제5,766,886호; 제5,770,196호; 제5,821,123호; 및 제5,869,619호; 및 PCT 특허 출원 공개 WO 93/11794호에 더 상세히 기재되어 있다.

[0496] 복합 인간 항체가, 예를 들어 Composite Human Antibody™ 기술(영국 케임브리지 소재의 Antitope Ltd.)을 사용하여 생성될 수 있다. 복합 인간 항체를 생성하기 위하여, T 세포 에피토프를 피함으로써, 생성되는 항체의 면역원성을 최소화하는 방식으로 다수의 인간 항체 가변 영역 서열의 단편으로부터 가변 영역 서열을 설계한다.

[0497] 탈면역화된 항체는 T-세포 에피토프가 제거된 항체이다. 탈면역화된 항체의 제조 방법이 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Jones *et al*., Methods Mol Biol. 525:405-23 (2009), xiv], 및 문헌[De Groot *et al*., Cell. Immunol. 244:148-153 (2006)]을 참조한다. 탈면역화된 항체는 T-세포 에피토프-고갈된 가변 영역 및 인간 불변 영역을 포함한다. 간략하게 말하면, 항체의 가변 영역들을 클로닝하고, 후속으로 T 세포 증식 검정에서 항체의 가변 영역으로부터 유래되는 중첩 펩티드를 시험함으로써 T-세포 에피토프를 확인한다. 컴퓨터 모의실험(*in silico*) 방법을 통해 T 세포 에피토프를 확인하여 인간 MHC 클래스 II에 대한 펩티드 결합을 확인한다. 돌연변이를 가변 영역 내에 도입하여 인간 MHC 클래스 II에 대한 결합을 소실시킨다. 이어서, 돌연변이된 가변 영역을 이용하여 탈면역화된 항체를 생성한다.

[0498] <u>항체 변이체</u>

[0499] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 아미노산 서열 변형(들)이 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 특성 - 특이성, 열안정성, 발현 수준, 글리코실화, 감소된 면역원성, 또는 용해도를 포함하지만 이로 한정되지 않음 - 을 최적화하는 것이 바람직할 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 항체에 추가하여, 본 명세서에 기재된 항체의 변이체가 제조될 수 있는 것으로 고려된다. 예를 들어, 적절한 뉴클레오티드 변화를 인코딩 DNA 내로 도입함으로써 그리고/또는 원하는 항체 또는 폴리펩티드의 합성에 의해 항체 변이체가 제조될 수 있다. 당업자는 아미노산 변화가 항체의 번역 후 프로세스를 변경시킬 수 있음이 이해된다.

[0500] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는, 예를 들어, 항체에 대한 임의의 유형의 분자의 공유적 부착에 의해 화학적으로 변형된다. 항체 유도체는, 예를 들어 글리코실화, 아세틸화, PEG화(pegylation), 인산화, 아미드화, 알려진 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 결합, 또는 하나 이상의 면역글로불린 도메인(예를 들어, Fc, 또는 Fc의 일부분)에 대한 접합에 의해 화학적으로 변형된 항체를 포함할 수 있다. 다수의 화학적 변형들 중 임의의 것이 특정 화학적 절단, 아세틸화, 제형화, 튜니

카마이신의 대사 합성 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는 알려진 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가적으로, 항체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0501] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 항체가 글리코실화되는 정도를 증가 또는 감소시키도록 변경된다. 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가 또는 결실은 하나 이상의 글리코실화 부위가 생성되거나 제거되도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 달성될 수 있다.

[0502] 본 명세서에 제공된 항체가 Fc 영역에 융합되는 경우, 이에 부착된 탄수화물은 변경될 수 있다. 포유류 세포에 의해 생성된 천연 항체는 전형적으로, Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-결합에 의해 일반적으로 부착된 분지형 바이안테나리 올리고당을 포함한다. 예를 들어, 문헌[Wright *et al*. *TIBTECH* 15:26-32 (1997)]을 참조한다. 올리고당은 다양한 탄수화물, 예를 들어 만노스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토스, 및 시알산뿐만 아니라, 바이안테나리 올리고당 구조의 "스템" 내의 GlcNAc에 부착된 푸코스를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 소정의 개선된 특성을 갖는 변이체를 생성하기 위해 본 명세서에 제공된 결합 분자에서의 올리고당의 변형이 이루어질 수 있다.

[0503] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체가 Fc 영역에 융합될 때, 본 명세서에 제공된 항체 변이체는 상기 Fc 영역에 (직접 또는 간접적으로) 부착된 푸코스가 결여된 탄수화물 구조를 가질 수 있다. 예를 들어, 그러한 항체에서의 푸코스의 양은 1% 내지 80%, 1% 내지 65%, 5% 내지 65% 또는 20% 내지 40%일 수 있다. 푸코스의 양은, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO 2008/077546호에 기재된 바와 같이, MALDI-TOF 질량 분석법에 의해 측정된 바와 같은 Asn 297에 부착된 모든 당구조(예를 들어, 복합체, 하이브리드 및 고 만노스 구조)의 합계에 대한 Asn297에서의 당 사슬 내의 푸코스의 평균량을 계산함으로써 결정된다. Asn297은 Fc 영역에서 대략 위치 297(Fc 영역 잔기의 EU 넘버링)에 위치된 아스파라긴 잔기를 지칭하지만, Asn297은 또한, 항체에서의 미소한 서열 변이로 인해 위치 297의 상류 또는 하류에서 약 ±3개의 아미노산에, 즉, 위치 294와 300 사이에 위치될 수 있다. 그러한 푸코실화 변이체는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2003/0157108호 및 제2004/0093621호를 참조한다. "탈푸코실화된(defucosylated)" 또는 "푸코스-결핍된" 항체 변이체와 관련된 간행물의 예에는 US 2003/0157108호; 국제 특허 출원 공개 WO 2000/61739호; 국제 특허 출원 공개 WO 2001/29246호; US 2003/0115614호; US 2002/0164328호; US 2004/0093621호; US 2004/0132140호; US 2004/0110704호; US 2004/0110282호; US 2004/0109865호; 국제 특허 출원 공개 WO 2003/085119호; 국제 특허 출원 공개 WO 2003/084570호; 국제 특허 출원 공개 WO 2005/035586호; 국제 특허 출원 공개 WO 2005/035778호; 국제 특허 출원 공개 WO 2005/053742호; 국제 특허 출원 공개 WO 2002/031140호; 문헌[Okazaki *et al*. *J. Mol. Biol*. 336:1239-1249 (2004)]; 문헌[Yamane-Ohnuki *et al*. *Biotech. Bioeng*. 87: 614 (2004)]이 포함된다. 탈푸코실화된 항체를 생성할 수 있는 세포주의 예에는 단백질 푸코실화가 결핍된 Lec13 CHO 세포(문헌[Ripka *et al*. *Arch. Biochem. Biophys*. 249:533-545 (1986)]; 미국 특허 출원 공개 US 2003/0157108호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2004/056312호), 및 녹아웃 세포주, 예컨대 알파-1, 6-푸코실트랜스퍼라제 유전자, *FUT8*, 녹아웃 CHO 세포(예를 들어, 문헌[Yamane-Ohnuki *et al*. *Biotech. Bioeng*. 87: 614 (2004)]; 문헌[Kanda, Y. *et al*., *Biotechnol. Bioeng*., 94 (4) : 680-688 (2006)]; 및 국제 특허 출원 공개 WO2003/085107호 참조)가 포함된다.

[0504] 본 명세서에 제공된 항체를 포함하는 결합 분자에는 이등분된(bisected) 올리고당이 추가로 제공되어 있으며, 예를 들어 여기서는 Fc 영역에 부착된 바이안테나리 올리고당이 GlcNAc에 의해 이등분되어 있다. 그러한 변이체는 감소된 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 그러한 변이체의 예가, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO 2003/011878호(Jean-Mairet *et al*.); 미국 특허 제6,602,684호(Umana *et al*.); 및 US 2005/0123546호(Umana *et al*.)에 기재되어 있다. 올리고당 내의 적어도 하나의 갈락토스 잔기가 Fc 영역에 부착된 변이체가 또한 제공된다. 그러한 변이체는 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 그러한 변이체는, 예를 들어 국제 특허 출원 공개 WO 1997/30087호; WO 1998/58964호; 및 WO 1999/22764호에 기재되어 있다.

[0505] 태아에 대한 모체(maternal) IgG의 전달을 담당하는 신생아 Fc 수용체(FcRn)(문헌[Guyer *et al*., *J. Immunol*. 117:587 (1976)] 및 문헌[Kim *et al*., *J. Immunol*. 24:249 (1994)])에 대한 개선된 결합, 및 증가된 반감기를 갖는 결합 분자가 US2005/0014934A1호(Hinton *et al*.)에 기재되어 있다. 이들 분자는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합을 개선하는 하나 이상의 치환이 내부에 존재하는 Fc 영역을 포함한다. 그러한 Fc 변이체는 하기 Fc 영역 잔기들 중 하나 이상에서 치환을 갖는 것들을 포함한다: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424 또는 434(예를 들어, Fc 영역 잔기 434의 치환)(미국 특허 제7,371,826호). 또한, Fc 영역 변이체의 다른 예에 관해서는 문헌[Duncan & Winter, *Nature* 322:738-40 (1988)]; 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 국제 특허 출원 공개 WO

94/29351호를 참조한다.

[0506] 일부 실시 형태에서, 항체의 하나 이상의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된 시스테인 조작된 항체를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 치환된 잔기는 항체의 접근가능한 부위에서 발생한다. 그러한 잔기들을 시스테인으로 치환함으로써, 이로써 반응성 티올 기가 항체의 접근가능한 부위에 위치되고, 항체를 다른 모이어티, 예컨대 약물 모이어티 또는 링커-약물 모이어티에 접합하여 면역접합체를 생성하는 데 사용될 수 있는데, 이는 본 명세서에서 추가로 기재된 바와 같다.

[0507] 변이는 원래의 항체 또는 폴리펩티드와 대비하여 아미노산 서열의 변화를 가져오는 항체 또는 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 이상의 코돈의 치환, 결실, 또는 삽입일 수 있다. 치환 돌연변이생성에 대한 관심 부위는 CDR 및 FR을 포함한다.

[0508] 아미노산 치환은, 세린에 의한 류신의 대체, 예를 들어, 보존적 아미노산 대체와 같이, 하나의 아미노산을 유사한 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 대체한 결과일 수 있다. 예를 들어, 아미노산 치환을 가져오는 부위-지정 돌연변이생성 및 PCR-매개 돌연변이생성을 포함하는, 당업자에게 알려진 표준 기법을 사용하여, 본 명세서에 제공된 분자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열에 돌연변이를 도입할 수 있다. 삽입 또는 결실은 선택적으로 약 1 내지 5개의 아미노산의 범위일 수 있다. 소정 실시 형태에서, 치환, 결실, 또는 삽입은 원래의 분자에 비해 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환, 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 포함한다. 구체적인 실시 형태에서, 치환은 하나 이상의 예측된 비필수 아미노산 잔기에서 실행된 보존적 아미노산 치환이다. 허용되는 변이는, 서열 내에 아미노산의 삽입, 결실, 또는 치환을 체계적으로 실행하고, 생성되는 변이체를 모 항체에 의해 나타나는 활성에 대해 시험함으로써 결정될 수 있다.

[0509] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개인 잔기부터 다수의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에까지 이르는 범위의 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합체뿐만 아니라, 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다.

[0510] 보존적 아미노산 치환에 의해 생성된 항체가 본 발명에 포함된다. "보존적 아미노산 치환"에서는, 아미노산 잔기가 유사한 전하를 가진 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된다. 전술된 바와 같이, 유사한 전하를 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 당업계에 정의되어 있다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 아이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지형 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 트레오닌, 발린, 아이소류신) 및 방향족 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 포함한다. 대안적으로, 예컨대 포화 돌연변이생성에 의해 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 돌연변이가 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체를 생물학적 활성에 대해 스크리닝하여 활성을 유지하는 돌연변이체를 확인할 수 있다. 돌연변이생성 후에, 인코딩된 단백질이 발현될 수 있고, 단백질의 활성이 결정될 수 있다. 특성을 유의하게 변화시키지 않거나 유지하도록 보존적(예를 들어, 유사한 특성 및/또는 측쇄를 갖는 아미노산 군 내의) 치환이 실행될 수 있다. 예시적인 치환이 하기 표에 나타나 있다.

[0511]

원래의 잔기	예시적인 치환	원래의 잔기	예시적인 치환
Ala(A)	Val; Leu; Ile	Leu(L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Arg(R)	Lys; Gln; Asn	Lys(K)	Arg; Gln; Asn
Asn(N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Met(M)	Leu; Phe; Ile
Asp(D)	Glu; Asn	Phe(F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Cys(C)	Ser; Ala	Pro(P)	Ala
Gln(Q)	Asn; Glu	Ser(S)	Thr
Glu(E)	Asp; Gln	Thr(T)	Val; Ser
Gly(G)	Ala	Trp(W)	Tyr; Phe
His(H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Tyr(Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Ile(I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Val(V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신

[0512] 아미노산은 이들의 측쇄의 특성의 유사성에 따라 그룹화될 수 있다(예를 들어, 문헌[Lehninger, Biochemistry

73-75 (2d ed. 1975)] 참조): (1) 비극성: Ala(A), Val(V), Leu(L), Ile(I), Pro(P), Phe(F), Trp(W), Met(M); (2) 비하전된 극성: Gly(G), Ser(S), Thr(T), Cys(C), Tyr(Y), Asn(N), Gln(Q); (3) 산성: Asp(D), Glu(E); 및 (4) 염기성: Lys(K), Arg(R), His(H). 대안적으로, 자연 발생 잔기를 일반적인 측쇄 특성에 기초하여 군으로 나눌 수 있다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) 산성: Asp, Glu; (4) 염기성: His, Lys, Arg; (5) 사슬 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및 (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe. 예를 들어, 항체의 적절한 입체형태를 유지하는 것에 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기가 또한, 분자의 산화 안정성을 개선하고 비정상적인 가교결합을 방지하기 위해, 예를 들어, 알라닌 또는 세린과 같은 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 비보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환하는 것을 수반할 것이다.

[0513] 치환 변이체의 하나의 유형은 모 항체(예를 들어, 인간화 항체 또는 인간 항체)의 하나 이상의 초가변 영역 잔기를 치환하는 것을 포함한다. 일반적으로, 생성되는 변이체(들)로서 추가 연구를 위해 선택된 것들은 모 항체와 대비하여 소정의 생물학적 특성에서 변형(예를 들어, 개선)을 가질(예를 들어, 증가된 친화도, 감소된 면역원성) 것이고/것이거나, 모 항체의 소정의 생물학적 특성을 실질적으로 유지할 것이다. 예시적인 치환 변이체는 친화성 성숙 항체인데, 이는, 예를 들어 파지 디스플레이-기반 친화성 성숙 기법, 예컨대 본 명세서에 기재된 것들을 사용하여 편리하게 생성될 수 있다. 간략하게 말하면, 하나 이상의 CDR 잔기를 돌연변이시키고, 변이 항체를 파지 상에 디스플레이하고, 특정 생물학적 활성(예를 들어, 결합 친화도)에 대해 스크리닝한다.

[0514] 예를 들어 항체 모이어티 친화도를 개선하기 위해, CDR에서 변경(예를 들어, 치환)이 이루어질 수 있다. 그러한 변경은 CDR "빈발부위(hotspot)", 즉, 체세포 성숙 과정 동안 고빈도로 돌연변이를 겪는 코돈에 의해 인코딩된 잔기(예를 들어, 문헌[Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)] 참조), 및/또는 SDR(a-CDR)에서 이루어질 수 있으며, 이때 생성된 변이체 항체 또는 이의 단편은 결합 친화도에 대해 시험된다. 2차 라이브러리로부터의 작제 및 재선택에 의한 친화성 성숙은, 예를 들어 문헌[Hoogenboom *et al.* in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)]에 기재되어 있다. 친화성 성숙의 일부 실시 형태에서, 임의의 다양한 방법(예를 들어, 오류-유발(error-prone) PCR, 사슬 셔플링, 또는 올리고뉴클레오티드-유도 돌연변이생성)에 의해 성숙을 위해 선택된 가변 유전자 내로 다양성이 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리를 생성한다. 이어서, 라이브러리를 스크리닝하여 원하는 친화도를 갖는 임의의 항체 변이체를 확인한다. 다양성을 도입하기 위한 다른 방법은 CDR-유도 접근법을 수반하는데, 여기서는 몇몇 CDR 잔기(예를 들어, 한 번에 4 내지 6개의 잔기)가 무작위화된다. 항원 결합에 관여하는 CDR 잔기는, 예를 들어 알라닌 스캐닝 돌연변이생성 또는 모델링을 사용하여 특이적으로 확인될 수 있다. 친화도 성숙에 관한 더 상세한 설명이 하기 섹션에 제공된다.

[0515] 일부 실시 형태에서, 치환, 삽입, 또는 결실이 하나 이상의 CDR 내에서 일어날 수 있는데, 이는, 그러한 변경이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한에 있어서이다. 예를 들어, 결합 친화도를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 변경(예를 들어, 본 명세서에 제공된 바와 같은 보존적 치환)이 CDR에서 이루어질 수 있다. 본 명세서에 제공된 변이 항체 서열의 일부 실시 형태에서, 각각의 CDR은 변경되지 않거나, 또는 1, 2, 또는 3개 이하의 아미노산 치환을 함유한다.

[0516] 돌연변이생성을 위해 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역의 확인에 유용한 방법은 문헌[Cunningham and Wells, *Science*, 244:1081-1085 (1989)]에 기재된 바와 같은 "알라닌 스캐닝 돌연변이생성"으로 불린다. 이 방법에서는, 표적 잔기 또는 표적 잔기 집단(예를 들어, 하전된 잔기, 예컨대 Arg, Asp, His, Lys, 및 Glu)을 확인하고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예를 들어, 알라닌 또는 폴리알라닌)에 의해 대체하여 항체와 항원의 상호작용에 영향을 주는지의 여부를 결정한다. 초기 치환에 대해 기능적 감수성을 보여준 아미노산 위치에서 추가의 치환이 도입될 수 있다. 대안적으로, 또는 추가적으로, 항원-항체 복합체의 결정 구조로 항체와 항원 사이의 접점을 확인한다. 그러한 접촉 잔기 및 이웃하는 잔기는 치환을 위한 후보로서 표적화되거나 제거될 수 있다. 변이체는 원하는 특성을 함유하는지의 여부를 결정하기 위해 스크리닝될 수 있다.

[0517] 아미노산 서열 삽입은 길이가 1개인 잔기부터 100개 이상인 잔기를 함유하는 폴리펩티드에까지 이르는 범위의 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합체뿐만 아니라, 단일 또는 다수의 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체에는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 폴리펩티드 또는 효소(예를 들어, ADEPT의 경우)에 대한 항체의 N- 또는 C-말단 융합체가 포함된다.

[0518] 올리고뉴클레오티드-매개(부위-지정) 돌연변이생성, 알라닌 스캐닝, 및 PCR 돌연변이생성과 같은 당업계에 알려

진 방법을 사용하여 변이를 실행할 수 있다. 부위-지정 돌연변이생성(예를 들어, 문헌[Carter, Biochem J. 237:1-7 (1986)]; 및 문헌[Zoller *et al.*, Nucl. Acids Res. 10:6487-500 (1982)] 참조), 카세트 돌연변이생성(예를 들어, 문헌[Wells *et al.*, Gene 34:315-23 (1985)] 참조), 또는 다른 알려진 기법을 클로닝된 DNA 상에서 수행하여 항체 변이체 DNA를 생성할 수 있다.

[0519] <u>시험관내 친화성 성숙</u>

[0520] 일부 실시 형태에서, 모 항체와 대비하여 친화성, 안정성, 또는 발현 수준과 같은 개선된 특성을 갖는 항체 변이체는 시험관내 친화성 성숙에 의해 제조될 수 있다. 천연 프로토타입과 마찬가지로, 시험관내 친화성 성숙은 돌연변이 및 선택의 원리에 기초한다. 항체의 라이브러리는 유기체(예를 들어, 파지, 세균, 효모, 또는 포유류 세포)의 표면 상에 또는 이들의 인코딩 mRNA 또는 DNA와 회합되어(예를 들어, 공유적으로 또는 비공유적으로) 디스플레이된다. 디스플레이된 항체의 친화성 선택은 항체를 인코딩하는 유전자 정보를 운반하는 유기체 또는 복합체의 단리를 가능하게 한다. 파지 디스플레이와 같은 디스플레이 방법을 사용하는 2회 라운드 또는 3회 라운드의 돌연변이 및 선택은 통상 낮은 나노몰 범위의 친화도를 갖는 항체 단편을 가져온다. 친화성 성숙된 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 심지어 피코몰의 친화도를 가질 수 있다.

[0521] 파지 디스플레이는 항체의 디스플레이 및 선택을 위한 광범위한 방법이다. 항체는 박테리오파지 코트 단백질에 대한 융합으로서 Fd 또는 M13 박테리오파지의 표면 상에 디스플레이된다. 선택은, "패닝(panning)"으로 지칭되는 공정인, 파지-디스플레이된 항체가 이들의 표적에 결합하는 것이 가능하도록 항원에 노출시키는 것을 포함한다. 항원에 결합된 파지를 회수하고, 세균을 감염시켜 추가의 선택 라운드를 위해 파지를 생성하기 위해 사용한다. 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom, Methods. Mol. Biol. 178:1-37 (2002)]; 및 문헌[Bradbury and Marks, J. Immunol. Methods 290:29-49 (2004)]을 참조한다.

[0522] 효모 디스플레이 시스템(예를 들어, 문헌[Boder *et al.*, Nat. Biotech. 15:553-57 (1997)]; 및 문헌[Chao *et al.*, Nat. Protocols 1:755-68 (2006)] 참조)에서, 항체는 효모 응집소 단백질 Aga2p의 접착 하위단위에 융합될 수 있으며, 이는 Aga1p에 대한 이황화물 결합을 통해 효모 세포벽에 부착된다. Aga2p를 통한 단백질의 디스플레이는 단백질을 세포 표면으로부터 멀리 돌출시켜, 효모 세포벽 상의 다른 분자와의 잠재적인 상호작용을 최소화한다. 개선된 친화성 또는 안정성을 갖는 항체에 대해 선택하기 위해, 자성 분리 및 유세포측정을 사용하여 라이브러리를 스크리닝한다. 비오티닐화된 항원 및 2차 시약, 예컨대 형광단에 접합된 스트렙타비딘을 이용한 효모의 표지화에 의해 관심 가용성 항원에 대한 결합이 결정된다. 항체의 표면 발현에서의 변이는 단일쇄 항체(예를 들어, scFv)를 플랭킹하는 헤마글루티닌 또는 c-Myc 에피토프 태그 중 어느 하나의 면역형광 표지화를 통해 측정될 수 있다. 발현은 디스플레이된 단백질의 안정성과 상관관계가 있는 것으로 나타났으며, 따라서 항체는 개선된 안정성뿐만 아니라 친화성에 대해 선택될 수 있다(예를 들어, 문헌[Shusta *et al.*, J. Mol. Biol. 292:949-56 (1999)] 참조). 효모 디스플레이의 추가의 이점은 디스플레이된 단백질이 진핵 효모 세포의 소포체 내에서 접혀서, 소포체 샤페론 및 품질-제어 기구를 이용한다는 점이다. 일단 성숙이 완료되면, 항체 친화성은 효모의 표면 상에 디스플레이되는 동안 편리하게 "적정"될 수 있어서, 각각의 클론의 발현 및 정제에 대한 필요성을 제거한다. 효모 표면 디스플레이의 이론적 제한은 다른 디스플레이 방법의 것보다 잠재적으로 더 작은 기능성 라이브러리 크기이지만; 최근의 접근법은 효모 세포의 교배 양식(mating system)을 사용하여 크기가 10^{14}으로 추정되는 조합 다양성을 생성한다(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2003/0186374호; 및 문헌[Blaise *et al.*, Gene 342:211-18 (2004)] 참조).

[0523] 리보솜 디스플레이에서는, 무세포 시스템에서의 선택을 위해 항체-리보솜-mRNA(ARM) 복합체가 생성된다. 항체의 특정 라이브러리를 코딩하는 DNA 라이브러리는 정지 코돈이 결여된 스페이서 서열에 유전자 융합된다. 이러한 스페이서 서열은, 번역될 경우에, 펩티딜 tRNA에 여전히 부착되고 리보솜 터널을 점유하며, 따라서 관심 단백질이 리보솜으로부터 돌출되고 접히는 것을 가능하게 한다. mRNA, 리보솜, 및 단백질의 생성되는 복합체는 표면-결합 리간드에 결합하여, 리간드를 이용한 친화성 포획을 통한 항체 및 그의 인코딩 mRNA의 동시 단리를 가능하게 할 수 있다. 이어서, 리보솜-결합된 mRNA는 다시 cDNA로 역전사되며, 이는 이어서 돌연변이생성을 거치고 다음 선택 라운드에 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Fukuda *et al.*, Nucleic Acids Res. 34:e127 (2006)] 참조). mRNA 디스플레이에서는, 어댑터 분자로서 퓨로마이신을 사용하여 항체와 mRNA 사이의 공유 결합을 확립한다(문헌[Wilson *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55 (2001)]).

[0524] 이들 방법들은 완전히 시험관내에서 수행되므로, 이들은 다른 선택 기술에 비해 2가지 주요 이점을 제공한다. 첫째로, 라이브러리의 다양성은 세균 세포의 형질전환 효율에 의해 제한되는 것이 아니라, 시험관 내에 존재하는 상이한 mRNA 분자 및 리보솜의 개수에 의해서만 제한된다. 둘째로, 임의의 다양화 단계 후에 라이브러리가

형질전환되어야 하는 것이 아니므로, 각각의 선택 라운드 후에, 예를 들어, 비교정(non-proofreading) 폴리머라제에 의해 무작위 돌연변이가 용이하게 도입될 수 있다.

[0525] 일부 실시 형태에서, 포유류 디스플레이 시스템이 사용될 수 있다.

[0526] 다양성은 또한, 표적화된 방식으로 또는 무작위 도입을 통해 항체 라이브러리의 CDR 내로 도입될 수 있다. 전자의 접근법은 고수준 또는 저수준의 돌연변이생성을 통해 항체의 모든 CDR을 순차적으로 표적화하는 것 또는 체세포 과돌연변이의 단리된 빈발부위(예를 들어, 문헌[Ho *et al.*, J. Biol. Chem. 280:607-17 (2005)] 참조) 또는 실험적 기반 또는 구조적 이유로 친화성에 영향을 주는 것으로 의심되는 잔기를 표적화하는 것을 포함한다. 다양성은 또한, DNA 셔플링 또는 유사한 기법을 통한 천연적으로 다양한 영역의 대체에 의해 도입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Lu *et al.*, J. Biol. Chem. 278:43496-507 (2003)]; 미국 특허 제5,565,332호 및 제6,989,250호 참조). 프레임워크-영역 잔기 내로 연장되는 초가변 루프를 표적으로 하는 대안적인 기법(예를 들어, 문헌[Bond *et al.*, J. Mol. Biol. 348:699-709 (2005)] 참조)은 CDR 내의 루프 결실 및 삽입을 사용하거나 혼성화-기반 다양화를 사용한다(예를 들어, 미국 특허 출원 공개 제2004/0005709호 참조). CDR에서 다양성을 생성하는 추가의 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제7,985,840호에 개시되어 있다. 항체 라이브러리 및/또는 항체 친화성 성숙을 생성하기 위해 사용될 수 있는 추가의 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제8,685,897호 및 제8,603,930호, 및 미국 특허 출원 공개 제2014/0170705호, 제2014/0094392호, 제2012/0028301호, 제2011/0183855호, 및 제2009/0075378호에 개시되어 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0527] 라이브러리의 스크리닝은 당업계에 알려진 다양한 기법에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 항체는 고체 지지체, 컬럼, 핀, 또는 셀룰로스/폴리(비닐리덴 플루오라이드) 막/다른 필터 상에 고정되거나, 흡착 플레이트에 부착된 숙주 세포 상에서 발현되거나, 세포 분류에 사용되거나, 스트렙타비딘-코팅된 비드를 이용한 포획을 위해 비오틴에 접합되거나, 디스플레이 라이브러리를 패닝하기 위한 임의의 다른 방법에 사용될 수 있다.

[0528] 시험관내 친화성 성숙 방법의 검토를 위해, 예를 들어, 문헌[Hoogenboom, Nature Biotechnology 23:1105-16 (2005)]; 문헌[Quiroz and Sinclair, Revista Ingeneria Biomedia 4:39-51 (2010)]; 및 그 안의 참고문헌을 참조한다.

[0529] <u>항체의 변형</u>

[0530] 항체의 공유적 변형은 본 발명의 범주 내에 포함된다. 공유적 변형은 항체의 표적화된 아미노산 잔기를 항체의 선택된 측쇄 또는 N- 또는 C-말단 잔기와 반응할 수 있는 유기 유도체화제와 반응시키는 것을 포함한다. 다른 변형은, 글루타미닐 및 아스파라기닐 잔기의 각각 상응하는 글루타밀 및 아스파르틸 잔기로의 탈아미드화, 프롤린 및 라이신의 하이드록실화, 세릴 또는 트레오닐 잔기의 하이드록실 기의 인산화, 라이신, 아르기닌, 및 히스티딘 측쇄의 α-아미노 기의 메틸화(예를 들어, 문헌[Creighton, <u>Proteins: Structure and Molecular Properties</u> 79-86 (1983)] 참조), N-말단 아민의 아세틸화, 및 임의의 C-말단 카르복실 기의 아미드화를 포함한다.

[0531] 본 발명의 범주 내에 포함되는 항체의 공유적 변형의 다른 유형은 전술된 바와 같은 항체 또는 폴리펩티드의 천연 글리코실화 패턴을 변경시키는 것(예를 들어, 문헌[Beck *et al.*, Curr. Pharm. Biotechnol. 9:482-501 (2008)]; 및 문헌[Walsh, Drug Discov. Today 15:773-80 (2010)] 참조), 및 예를 들어, 미국 특허 제4,640,835호; 제4,496,689호; 제4,301,144호; 제4,670,417호; 제4,791,192호; 또는 제4,179,337호에 제시된 방식으로 다양한 비단백질성 중합체, 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리프로필렌 글리콜, 또는 폴리옥시알킬렌 중 하나에 항체를 연결하는 것을 포함한다. 본 발명의 항체는 또한, 반감기를 연장시키고/시키거나 알려진 Fc-매개 이펙터 기능을 부여하기 위해 하나 이상의 면역글로불린 불변 영역 또는 이의 일부분(예를 들어, Fc)에 유전자적으로 융합되거나 접합될 수 있다.

[0532] 본 발명의 항체는 또한, 다른 이종성 폴리펩티드 또는 아미노산 서열, 예를 들어, 에피토프 태그(예를 들어, 문헌[Terpe, Appl. Microbiol. Biotechnol. 60:523-33 (2003)] 참조) 또는 IgG 분자의 Fc 영역(예를 들어, 문헌[Aruffo, <u>Antibody Fusion Proteins</u> 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)] 참조)에 융합된 항체를 포함하는 키메라 분자를 형성하도록 변형될 수 있다.

[0533] 본 발명의 항체와 이종성 폴리펩티드를 포함하는 융합 단백질이 또한 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 항체가 유전자적으로 융합되거나 화학적으로 접합된 이종성 폴리펩티드는 항체를 세포 표면-발현된 항원을 갖는 세포에 표적화하는 데 유용하다.

[0534] <u>항체를 포함하는 다른 결합 분자</u>

[0535] 다른 태양에서, 다른 작용제에 유전자적으로 융합되거나 화학적으로 접합된 본 명세서에 제공된 항체를 포함하는 결합 분자가 본 명세서에 제공된다. 본 발명의 예시적인 결합 분자가 본 명세서에 기재되어 있다.

[0536] <u>융합 단백질</u>

[0537] 다양한 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 다른 작용제, 예를 들어 단백질-기반 실체에 유전자적으로 융합되거나 화학적으로 접합될 수 있다. 항체는 작용제에 화학적으로 접합될 수 있거나, 아니면 작용제에 비공유적으로 접합될 수 있다. 작용제는 펩티드 또는 항체(또는 이의 단편)일 수 있다.

[0538] 따라서, 일부 실시 형태에서, 이종성 단백질 또는 폴리펩티드(또는 이의 단편)에, 예를 들어 약 10, 약 20, 약 30, 약 40, 약 50, 약 60, 약 70, 약 80, 약 90, 약 100, 약 150, 약 200, 약 250, 약 300, 약 350, 약 400, 약 450 또는 약 500개의 아미노산, 또는 500개 초과의 아미노산의 폴리펩티드에 재조합적으로 융합되거나 화학적으로 접합되어(공유적 또는 비공유적 접합) 융합 단백질을 생성하는 항체뿐만 아니라, 이의 용도가 본 명세서에 제공된다. 특히, 본 명세서에 제공된 항체의 항원-결합 단편(예를 들어, CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3)을 포함하는 융합 단백질 및 이종성 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드가 본 명세서에 제공된다.

[0539] 더욱이, 본 명세서에 제공된 항체는 정제를 용이하게 하기 위해 마커 또는 "태그" 서열, 예컨대 펩티드에 융합될 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, 마커 또는 태그 아미노산 서열은 헥사-히스티딘 펩티드, 헤마글루티닌("HA") 태그, 및 "FLAG" 태그이다.

[0540] 모이어티(폴리펩티드를 포함함)를 항체에 융합시키거나 접합시키는 방법이 알려져 있다(예를 들어, 문헌[Arnon *et al.*, Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld *et al.* eds., 1985)]; 문헌[Hellstrom *et al.*, Antibodies for Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery 623-53 (Robinson *et al.* eds., 2d ed. 1987)]; 문헌[Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, in Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera *et al.* eds., 1985)]; 문헌[Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin *et al.* eds., 1985)]; 문헌[Thorpe *et al.*, Immunol. Rev. 62:119-58 (1982)]; 미국 특허 제5,336,603호; 제5,622,929호; 제5,359,046호; 제5,349,053호; 제5,447,851호; 제5,723,125호; 제5,783,181호; 제5,908,626호; 제5,844,095호; 및 제5,112,946호; EP 307,434호; EP 367,166호; EP 394,827호; PCT 특허 출원 공개 WO 91/06570호, WO 96/04388호, WO 96/22024호, WO 97/34631호, 및 WO 99/04813호; 문헌[Ashkenazi *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-39 (1991)]; 문헌[Traunecker *et al.*, Nature, 331:84-86 (1988)]; 문헌[Zheng *et al.*, J. Immunol. 154:5590-600 (1995)]; 및 문헌[Vil *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-41 (1992)] 참조).

[0541] 융합 단백질은, 예를 들어 유전자-셔플링, 모티프-셔플링, 엑손-셔플링, 및/또는 코돈-셔플링(총칭하여 "DNA 셔플링"으로 지칭됨)의 기법을 통해 생성될 수 있다. 예를 들어, 더 높은 친화성과 더 낮은 해리 속도를 갖는 항체를 포함한 본 명세서에 제공된 항체의 활성을 변경시키기 위해, DNA 셔플링이 사용될 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제5,605,793호; 제5,811,238호; 제5,830,721호; 제5,834,252호; 및 제5,837,458호; 문헌[Patten *et al.*, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33 (1997)]; 문헌[Harayama, Trends Biotechnol. 16 (2):76-82 (1998)]; 문헌[Hansson *et al.*, J. Mol. Biol. 287:265-76 (1999)]; 및 문헌[Lorenzo and Blasco, Biotechniques 24 (2):308-13 (1998)] 참조). 항체, 또는 인코딩된 항체는 재조합 전에 오류-유발 PCR, 무작위 뉴클레오티드 삽입, 또는 다른 방법에 의한 무작위 돌연변이생성을 적용함으로써 변경될 수 있다. 본 명세서에 제공된 항체를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 이종성 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 섹션, 부분, 도메인, 단편 등과 재조합될 수 있다.

[0542] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는 제2 항체에 접합되어 항체 이종접합체를 형성한다.

[0543] 다양한 실시 형태에서, 항체는 작용제에 유전자적으로 융합된다. 유전자 융합은 항체와 작용제 사이에 링커(예를 들어, 폴리펩티드)를 배치함으로써 달성될 수 있다. 링커는 가요성 링커일 수 있다.

[0544] 다양한 실시 형태에서, 항체는 항체를 치료용 분자에 연결하는 힌지 영역을 사용하여 치료용 분자에 유전자적으로 접합된다.

[0545] 본 명세서에 제공된 다양한 융합 단백질을 제조하는 방법이 본 명세서에 또한 제공된다. 섹션 5.4에 기재된 다양한 방법이 또한 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 제조하는 데 이용될 수 있다.

[0546] 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 융합 단백질은 재조합적으로 발현된다. 본 명세서에 제공된 융합 단백질의 재조합 발현은 단백질 또는 이의 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터의 작제를 필요로 할 수 있다. 일단 본 명세서에 제공된 단백질 또는 이의 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 얻어졌으면, 분자의 생성을 위한 벡터가 당업계에 잘 알려진 기법을 사용하여 재조합 DNA 기술에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 인코딩 뉴클레오티드 서열을 함유하는 폴리뉴클레오티드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하기 위한 방법이 본 명세서에 기재된다. 당업자에게 잘 알려진 방법을 사용하여 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 작제할 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법, 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다. 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 명세서에 제공된 융합 단백질, 또는 이의 단편, 또는 CDR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터가 또한 제공된다.

[0547] 발현 벡터는 통상적인 기법에 의해 숙주 세포에 전달될 수 있으며, 이어서 형질감염된 세포는 통상적인 기법에 의해 배양되어 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 생성한다. 따라서, 이종성 프로모터에 작동가능하게 연결된 본 명세서에 제공된 융합 단백질 또는 이의 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 숙주 세포가 본 명세서에 또한 제공된다.

[0548] 다양한 숙주-발현 벡터 시스템이 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 발현하는 데 이용될 수 있다. 그러한 숙주-발현 시스템은, 관심 코딩 서열을 생성하고 후속으로 정제할 수 있는 비히클을 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오티드 코딩 서열로 형질전환되거나 형질감염될 경우에 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 원위치(*in situ*)에서 발현할 수 있는 세포를 나타낸다. 이들은 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA, 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 세균(예를 들어, E. 콜라이(*E. coli*) 및 B. 수브틸리스(*B. subtilis*))과 같은 미생물; 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들어, 사카로미세스 피키아(*Saccharomyces pichia*)); 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 바큘로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV, 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유류 세포의 게놈으로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유류 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유류 세포 시스템(예를 들어, COS, CHO, BHK, 293, NSO, 및 3T3 세포)을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한, 진핵 세포, 또는, 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*)와 같은 세균 세포가 재조합 융합 단백질의 발현에 사용될 수 있다. 예를 들어, 인간 거대세포바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 함께, 중국 햄스터 난소 세포(CHO)와 같은 포유류 세포는 항체를 위한 효과적인 발현 시스템이다. 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 융합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현은 구성적 프로모터, 유도성 프로모터, 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0549] 세균 시스템에서, 발현되는 융합 단백질에 대해 의도된 용도에 따라 다수의 발현 벡터가 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질의 약제학적 조성물의 생성을 위해, 다량의 그러한 융합 단백질이 생성되어야 하는 경우, 용이하게 정제되는 융합 단백질 생성물의 고수준의 발현을 유도하는 벡터가 바람직할 수 있다. 그러한 벡터는, 융합 단백질이 생성되도록 항체 코딩 서열이 lac Z 코딩 영역과 인 프레임(in frame)으로 벡터 내에 개별적으로 라이게이션될 수 있는 E. 콜라이 발현 벡터 pUR278(문헌[Ruther *et al.*, EMBO 12:1791 (1983)]); pIN 벡터(문헌[Inouye & Inouye, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109 (1985)]; 문헌[Van Heeke & Schuster, J. Biol. Chem. 24:5503-5509 (1989)]) 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 글루타티온 5-트랜스페라제(GST)와의 융합 단백질로서 외래 폴리펩티드를 발현시키기 위해 pGEX 벡터가 또한 사용될 수 있다. 일반적으로, 그러한 융합 단백질은 가용성이고, 용해된 세포로부터 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 대한 흡착 및 결합에 이어서 유리 글루타티온의 존재 하의 용리에 의해 용이하게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 클로닝된 표적 유전자 생성물이 GST 모이어티로부터 방출될 수 있도록 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계된다.

[0550] 포유류 숙주 세포에서는, 다수의 바이러스-기반 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우, 관심 코딩 서열은 아데노바이러스 전사/번역 제어 복합체, 예를 들어, 후기 프로모터 및 3-부분 리더 서열에 라이게이션될 수 있다. 이어서, 이러한 키메라 유전자는 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈에 삽입될 수 있다. 바이러스 게놈의 비필수 영역(예를 들어, 영역 E1 또는 E3)에서의

삽입은 생존가능하고 감염된 숙주에서 융합 단백질을 발현할 수 있는 재조합 바이러스를 가져올 것이다(예를 들어, 문헌[Logan & Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 8 1:355-359 (1984)] 참조). 삽입된 코딩 서열의 효율적인 번역을 위해 특이적 개시 신호가 또한 필요할 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열을 포함한다. 더욱이, 개시 코돈은 전체 삽입물의 번역을 보장하기 위해 원하는 코딩 서열의 리딩 프레임과 일치해야 한다. 이들 외인성 번역 제어 신호 및 개시 코돈은 천연 및 합성 둘 모두의 다양한 기원의 것일 수 있다. 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등의 포함에 의해 발현 효율이 향상될 수 있다(예를 들어, 문헌[Bittner *et al.*, Methods in Enzymol. 153:51-544 (1987)] 참조).

[0551] 또한, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나, 원하는 특이적 방식으로 유전자 생성물을 변형시키고 가공하는 숙주 세포 균주가 선택될 수 있다. 단백질 생성물의 그러한 변형(예를 들어, 글리코실화) 및 가공(예를 들어, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포들은 단백질 및 유전자 산물의 번역후 가공 및 변형을 위한 특징적이고 특이적인 기전을 갖는다. 발현되는 외래 단백질의 올바른 변형 및 가공을 보장하도록 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다. 이 목적을 위해, 유전자 생성물의 1차 전사체, 글리코실화, 및 인산화의 적절한 가공을 위한 세포 기구를 보유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 그러한 포유류 숙주 세포는 CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NSO(내인성으로 임의의 면역글로불린 사슬을 생성하지 않는 뮤린 골수종 세포주), CRL7030 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0552] 재조합 단백질의 장기 고수율 생성을 위해, 안정한 발현이 이용될 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질을 안정적으로 발현하는 세포주가 조작될 수 있다. 바이러스 복제 기점을 함유하는 발현 벡터를 사용하기보다는, 적절한 발현 조절 요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등)에 의해 제어되는 DNA 및 선택가능한 마커로 숙주 세포를 형질전환할 수 있다. 외래 DNA의 도입 이후, 조작된 세포를 풍부화된 배지(enriched media) 중에서 1 내지 2일 동안 성장되게 할 수 있으며, 이어서 선택 배지로 교체한다. 재조합 플라스미드 내의 선택가능 마커는 선택에 대한 저항성을 부여하여, 세포가 플라스미드를 그의 염색체 내로 안정하게 통합시키고 성장시켜 증식소(foci)를 형성하게 하며, 이는 결국 클로닝되고 세포주로 증폭될 수 있다. 이러한 방법은 융합 단백질을 발현하는 세포주를 조작하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. 그러한 조작된 세포주는 결합 분자와 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 조성물의 스크리닝 및 평가에 특히 유용할 수 있다.

[0553] 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나제(문헌[Wigler *et al.*, Cell 11:223 (1977)]), 하이포잔틴구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(문헌[Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202 (1992)]), 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(문헌[Lowy *et al.*, Cell 22:8-17 (1980)]) 유전자를 포함하지만 이로 한정되지 않는 다수의 선택 시스템이 각각 tk-, hgprt-, 또는 aprt-세포에 사용될 수 있다. 또한, 하기 유전자에 대한 선택의 기반으로서 항대사물 저항성이 사용될 수 있다: 메토트렉세이트에 대한 저항성을 부여하는 *dhfr*(문헌[Wigler *et al.*, Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980)]; 문헌[O'Hare *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527 (1981)]); 마이코페놀산에 대한 저항성을 부여하는 *gpt*(문헌[Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072 (1981)]); 아미노글리코시드 G-418에 대한 저항성을 부여하는 *neo*(문헌[Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95 (1991)]; 문헌[Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596 (1993)]; 문헌[Mulligan, Science 260:926-932 (1993)]; 및 문헌[Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993)]; 문헌[May, TIB TECH 11 (5):155-2 15 (1993)]); 및 하이그로마이신에 대한 저항성을 부여하는 *hygro*(문헌[Santerre *et al.*, Gene 30:147 (1984)]). 원하는 재조합 클론을 선택하기 위해, 당업계에 일반적으로 알려진 재조합 DNA 기술의 방법이 일상적으로 적용될 수 있으며, 그러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)]; 문헌[Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)]; 및 문헌[Chapters 12 and 13, Dracopoli *et al.* (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)]; 문헌[Colberre-Garapin *et al.*, J. Mol. Biol. 150:1 (1981)]에 기재되어 있고, 이들은 전체적으로 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0554] 융합 단백질의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위해, 문헌[Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)] 참조). 융합 단백질을 발현하는 벡터 시스템에서 마커가 증폭가능한 경우, 숙주 세포의 배양물 내에 존재하는 억제제의 수준의 증가는 마커 유전자의 카피 수를 증가시킬 것이다. 증폭되는 영역은 융합 단백질 유전자와 관련되므로, 융합 단백질의 생성이 또한 증가할 것이다(문헌[Crouse *et al.*, Mol. Cell. Biol. 3: 257 (1983)]).

[0555] 숙주 세포는 본 명세서에 제공된 다수의 발현 벡터로 공동-형질감염될 수 있다. 이들 벡터는 각각의 인코딩 폴리펩티드들의 동일한 발현을 가능하게 하는 동일한 선택가능한 마커를 함유할 수 있다. 대안적으로, 다수의 폴리펩티드를 인코딩하고 발현할 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 코딩 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

[0556] 일단 본 명세서에 제공된 융합 단백질이 재조합 발현에 의해 생성되었으면, 이는 폴리펩티드(예를 들어, 면역글로불린 분자)의 정제에 대해 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해, 예를 들어 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피(특히, 단백질 A 크로마토그래피 후 특이적 항원에 대한 친화성에 의함), 크기결정 컬럼 크로마토그래피, 및 카파 선택 친화성 크로마토그래피), 원심분리, 차등 용해도에 의해, 또는 단백질의 정제에 대한 임의의 다른 표준 기법에 의해 정제될 수 있다. 추가로, 정제를 용이하게 하기 위해 본 명세서에 제공된 융합 단백질 분자는 본 명세서에 기재되거나 달리 당업계에 알려진 이종성 폴리펩티드 서열에 융합될 수 있다.

[0557] <u>면역접합체</u>

[0558] 일부 실시 형태에서, 본 발명은 또한 하나 이상의 세포독성제, 예컨대 화학요법제 또는 화학요법 약물, 성장 억제제, 독소(예를 들어, 단백질 독소, 세균, 진균, 식물, 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소, 또는 이들의 단편), 또는 방사성 동위원소에 접합된 본 명세서에 기재된 임의의 항체를 포함하는 면역접합체를 제공한다.

[0559] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 항체-약물 접합체(ADC)이며, 여기서는 항체가 하나 이상의 약물에 접합되며, 이러한 약물에는 메이탄시노이드(미국 특허 제5,208,020, 5,416,064호 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1호 참조); 오리스타틴, 예컨대 모노메틸오리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF(MMAE 및 MMAF)(미국 특허 제5,635,483호 및 제5,780,588호, 및 제7,498,298호 참조); 돌라스타틴, 칼리케아미신 또는 이들의 유도체(미국 특허 제5,712,374호, 제5,714,586호, 제5,739,116호, 제5,767,285호, 제5,770,701호, 제5,770,710호, 제5,773,001호, 및 제5,877,296호 참조); 문헌[Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)]; 및 문헌[Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)] 참조); 안트라사이클린, 예컨대 다우노마이신 또는 독소루비신(문헌[Kratz et al., *Current Med. Chem.* 13:477-523 (2006)]; 문헌[Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362 (2006)]; 문헌[Torgov et al., *Bioconj. Chem.* 16:717-721 (2005)]; 문헌[Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000)]; 문헌[Dubowchik et al., *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532 (2002)]; 문헌[King et al., *J. Med. Chem.* 45:4336-4343 (2002)]; 및 미국 특허 제6,630,579호 참조); 메토트렉세이트; 빈데신; 탁산, 예컨대 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀, 및 오르타탁셀; 트리코테센; 및 CC1065가 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0560] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는 효소적으로 활성인 독소 또는 이의 단편에 접합된 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 포함하며, 이에는 디프테리아 A 사슬, 디프테리아 독소의 비결합성 활성 단편, 외독소 A 사슬(슈도모나스 아이루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*) 유래), 리신 A 사슬, 아브린 A 사슬, 모데신 A 사슬, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피토라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질(PAPI, PAPII, 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*Momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오프피시날리스(*Sapaonaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트리코테센이 포함되지만 이로 한정되지 않는다.

[0561] 일부 실시 형태에서, 면역접합체는, 방사성 원자에 접합되어 방사성 접합체(radioconjugate)를 형성하는 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위원소가 방사성 접합체의 생성에 이용가능하다. 예에는 At^{211}, I^{131}, I^{125}, Y^{90}, Re^{186}, Re^{188}, Sm^{153}, Bi^{212}, P^{32}, Pb^{212}, 및 Lu의 방사성 동위원소가 포함된다. 방사성 접합체가 검출에 사용되는 경우, 그것은 섬광조영술 연구용 방사성 원자, 예를 들어 tc99m 또는 I123, 또는 핵 자기 공명(NMR) 이미징(자기 공명 이미징, mri로도 알려짐)을 위한 스핀 라벨, 예컨대 다시 요오드-123, 요오드-131, 인듐-111, 불소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다.

[0562] 항체와 세포독성제의 접합체는 다양한 이중기능성 단백질-커플링제, 예컨대 N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이티오)프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥산-1-카르복실레이트(SMCC), 이미노티올란(IT), 이미도에스테르의 이중기능성 유도체(예컨대, 다이메틸 아디피미데이트 HCl), 활성 에스테르(예컨대, 다이석신이미딜 수베레이트), 알데하이드(예컨대, 글루타르알데하이드), 비스-아지도 화합물(예컨대, 비스(p-아지도벤조일)헥산다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예컨대, 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소시아네이트(예컨대, 톨루엔 2,6-다이아이소시아네이트), 및 비스-활성 불소 화합물(예컨대, 1,5-다이플루오

로-2,4-다이니트로벤젠)을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소가 문헌[Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지 1-아이소티오시아네이토벤질-3-메틸다이에틸렌 트라이아민펜타아세트산(MX-DTPA)은 항체에 대한 방사성 핵종의 접합을 위한 예시적인 킬레이팅제이다. 국제 특허 출원 공개 WO94/11026호를 참조한다.

[0563] 링커는 세포에서 접합된 작용제의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있지만, 절단 불가능한 링커도 본 명세서에서 고려된다. 본 발명의 접합체에 사용하기 위한 링커는, 제한 없이, 산 불안정성 링커(예를 들어, 하이드라존 링커), 이황화물-함유 링커, 펩티다제-민감성 링커(예를 들어, 아미노산, 예를 들어, 발린 및/또는 시트룰린을 포함하는 펩티드 링커, 예컨대 시트룰린-발린 또는 페닐알라닌-라이신), 광불안정성 링커, 다이메틸 링커, 티오에테르 링커, 또는 다중약물 수송체-매개 저항성을 회피하도록 설계된 친수성 링커를 포함한다.

[0564] 본 명세서에서의 면역접합체 또는 ADC는 가교결합 시약 - 이에는 BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설포-EMCS, 설포-GMBS, 설포-KMUS, 설포-MBS, 설포-SIAB, 설포-SMCC, 및 설포-SMPB, 및 SVSB(석신이미딜-(4-비닐설폰)벤조에이트)가 포함되지만 이로 한정되지 않음 - 을 사용하여 제조된 그러한 접합체를 고려하지만 이로 한정되지 않으며, 이들은 (예를 들어, 미국 일리노이주 록포드 소재의 Pierce Biotechnology, Inc.로부터) 구매가능하다.

[0565] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 항체는, 예를 들어 진단용 분자에 접합되거나 재조합적으로 융합된다. 그러한 진단 및 검출은, 예를 들어, 항체를 검출가능한 물질에 커플링함으로써 달성될 수 있으며, 이러한 검출가능한 물질에는 하기가 포함되지만 이로 한정되지 않는다: 다양한 효소, 예컨대 제한 없이, 서양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 또는 아세틸콜린에스테라제; 보결기(prosthetic group), 예컨대 제한 없이, 스트렙타비딘/비오틴 또는 아비딘/비오틴; 형광 물질, 예컨대 제한 없이, 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 아이소티오시네이트, 로다민, 다이클로로트라이아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드, 또는 피코에리트린; 발광 물질, 예컨대 제한 없이, 루미놀; 생물발광 물질, 예컨대 제한 없이, 루시페라제, 루시페린, 또는 에쿼린; 화학발광 물질, 예컨대 225Ac γ-방출, 오거(Auger)-방출, β-방출, 알파-방출 또는 양전자-방출 방사성 동위원소.

[0566] **5.3.폴리뉴클레오티드**

[0567] 소정 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 기재된 본 결합 분자(예를 들어, 항체)를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 RNA의 형태 또는 DNA의 형태일 수 있다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 및 합성 DNA를 포함하고; 이중-가닥 또는 단일-가닥일 수 있으며, 단일 가닥인 경우에는 코딩 가닥 또는 비-코딩(안티-센스) 가닥일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드는 cDNA의 형태이다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드는 합성 폴리뉴클레오티드이다.

[0568] 본 발명은 추가로 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오티드의 변이체에 관한 것이며, 여기서 변이체는, 예를 들어, 본 발명의 결합 분자의 단편, 유사체, 및/또는 유도체를 인코딩한다. 소정 실시 형태에서, 본 발명은 본 발명의 결합 분자를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드와 적어도 약 75% 동일한 뉴클레오티드 서열, 적어도 약 80% 동일한 뉴클레오티드 서열, 적어도 약 85% 동일한 뉴클레오티드 서열, 적어도 약 90% 동일한 뉴클레오티드 서열, 적어도 약 95% 동일한 뉴클레오티드 서열, 그리고 일부 실시 형태에서는, 적어도 약 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "예를 들어, 참조 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% "동일한" 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드"는 폴리뉴클레오티드 서열이 참조 뉴클레오티드 서열의 각각의 100개 뉴클레오티드당 최대 5개의 점 돌연변이를 포함할 수 있다는 점을 제외하고는, 폴리뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열이 참조 서열과 동일함을 의미하도록 의도된다. 다시 말해서, 참조 뉴클레오티드 서열과 적어도 95% 동일한 뉴클레오티드 서열을 갖는 폴리뉴클레오티드를 얻기 위해, 참조 서열 내의 뉴클레오티드의 최대 5%가 결실되거나 다른 뉴클레오티드로 치환될 수 있거나, 참조 서열 내의 총 뉴클레오티드의 최대 5%의 뉴클레오티드 개수가 참조 서열 내로 삽입될 수 있다. 참조 서열의 이들 돌연변이는 참조 뉴클레오티드 서열의 5' 또는 3' 말단 위치 또는 그러한 말단 위치들 사이의 임의의 곳에서 발생할 수 있으며, 참조 서열 내의 뉴클레오티드 사이에 개별적으로, 또는 참조 서열 내의 하나 이상의 인접한 군 내에서 산재된다.

[0569] 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩 영역, 비-코딩 영역, 또는 둘 모두의 변경을 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는, 침묵 치환, 부가, 또는 결실을 생성하지만, 인코딩된 폴리펩티드의 특성 또는 활성을 변경시키지 않는 변경을 함유한다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 (유전자 코드의 축퇴로 인해) 폴리펩티드의 아미노산 서열에 변화를 가져오지 않는 침묵 치환을 포함한다. 폴리뉴클레오티드

변이체는 다양한 이유로, 예를 들어, 특정 숙주에 대한 코돈 발현을 최적화하기 위해 생성될 수 있다(즉, 인간 mRNA에서의 코돈을 E. 콜라이와 같은 세균 숙주에 의해 선호되는 것들로 변화시킴). 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 서열의 비-코딩 또는 코딩 영역 내에 하나 이상의 침묵 돌연변이를 포함한다.

[0570] 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 인코딩된 폴리펩티드의 발현(또는 발현 수준)을 조절하거나 변경시키기 위해 생성된다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 인코딩된 폴리펩티드의 발현을 증가시키기 위해 생성된다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 인코딩된 폴리펩티드의 발현을 감소시키기 위해 생성된다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 모 폴리뉴클레오티드 서열과 대비하여 인코딩된 폴리펩티드의 발현을 증가시켰다. 일부 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드 변이체는 모 폴리뉴클레오티드 서열과 대비하여 인코딩된 폴리펩티드의 발현을 감소시켰다.

[0571] 본 명세서에 기재된 핵산 분자를 포함하는 벡터가 또한 제공된다. 일 실시 형태에서, 핵산 분자는 재조합 발현 벡터 내로 도입될 수 있다. 본 발명은 본 발명의 임의의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "재조합 발현 벡터"는 유전자 변형된 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드 작제물을 의미하는 것으로서, 이러한 작제물이 mRNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 이러한 벡터가 숙주 세포 내에서 발현되는 mRNA, 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 갖기에 충분한 조건 하에서 숙주 세포와 접촉될 때, 숙주 세포에 의한 mRNA, 단백질, 폴리펩티드, 또는 펩티드의 발현을 가능하게 한다. 본 명세서에 기재된 벡터는 전체적으로 자연 발생하지는 않지만; 벡터의 일부는 자연 발생할 수 있다. 기재된 재조합 발현 벡터는 DNA 및 RNA를 포함하지만 이로 한정되지 않는 임의의 유형의 뉴클레오티드를 포함할 수 있으며, 이는 단일 가닥 또는 이중 가닥이거나, 합성되거나, 천연 공급원으로부터 부분적으로 획득될 수 있고, 천연, 비천연 또는 변경된 뉴클레오티드를 함유할 수 있다. 재조합 발현 벡터는 자연 발생 또는 비자연 발생 뉴클레오티드간 결합, 또는 두 결합 유형 모두를 포함할 수 있다. 비자연 발생 또는 변경된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드간 결합은 벡터의 전사 또는 복제를 방해하지 않는다.

[0572] 일 실시 형태에서, 본 발명의 재조합 발현 벡터는 임의의 적합한 재조합 발현 벡터일 수 있으며, 임의의 적합한 숙주를 형질전환시키거나 형질감염시키는 데 사용될 수 있다. 적합한 벡터는 전파 및 증폭을 위해 또는 발현을 위해 또는 둘 모두를 위해 설계된 것들, 예컨대 플라스미드 및 바이러스를 포함한다. 벡터는 pUC 시리즈(미국 메릴랜드주 글렌 버니 소재의 Fermentas Life Sciences), pBluescript 시리즈(미국 캘리포니아주 라졸라 소재의 Stratagene), pET 시리즈(미국 위스콘신주 매디슨 소재의 Novagen), pGEX 시리즈(스웨덴 웁살라 소재의 Pharmacia Biotech), 및 pEX 시리즈(미국 캘리포니아주 팔로 알토 소재의 Clontech)로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 박테리오파지 벡터, 예컨대 λGT10, λGT11, λEMBL4, 및 λNM1149, λZapII(Stratagene)가 사용될 수 있다. 식물 발현 벡터의 예에는 pBI01, pBI01.2, pBI121, pBI101.3, 및 pBIN19(Clontech)가 포함된다. 동물 발현 벡터의 예에는 pEUK-C1, pMAM, 및 pMAMneo(Clontech)가 포함된다. 재조합 발현 벡터는 바이러스 벡터, 예를 들어 레트로바이러스 벡터, 예를 들어 감마 레트로바이러스 벡터일 수 있다.

[0573] 일 실시 형태에서, 재조합 발현 벡터는, 예를 들어 문헌[Sambrook *et al.*, 상기 문헌], 및 문헌[Ausubel *et al.*, 상기 문헌]에 기재된 표준 재조합 DNA 기법을 사용하여 제조된다. 원형 또는 선형인 발현 벡터의 작제물은 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에서 기능적인 복제 시스템을 함유하도록 제조될 수 있다. 복제 시스템은, 예를 들어 ColE1, SV40, 2 μ 플라스미드, λ, 소 유두종 바이러스 등으로부터 유래될 수 있다.

[0574] 재조합 발현 벡터는 적절한 경우에 그리고 벡터가 DNA- 또는 RNA-기반인지의 여부를 고려하여, 벡터가 도입될 숙주(예를 들어, 세균, 식물, 진균, 또는 동물)의 유형에 특이적인 조절성 서열, 예컨대 전사 및 번역 개시 및 종결 코돈을 포함할 수 있다.

[0575] 재조합 발현 벡터는 형질전환된 또는 형질감염된 숙주의 선택을 가능하게 하는 하나 이상의 마커 유전자를 포함할 수 있다. 마커 유전자는 살생제 저항성, 예를 들어 항생제, 중금속 등에 대한 저항성, 영양요구성 숙주에서 원영양성을 제공하기 위한 상보성 등을 포함한다. 기재된 발현 벡터에 적합한 마커 유전자는, 예를 들어 네오마이신/G418 저항성 유전자, 히스티딘올 x 저항성 유전자, 히스티딘올 저항성 유전자, 테트라사이클린 저항성 유전자, 및 암피실린 저항성 유전자를 포함한다.

[0576] 재조합 발현 벡터는 본 발명의 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 천연 또는 규범적 프로모터를 포함할 수 있다. 프로모터의 선택, 예를 들어 강한, 약한, 조직-특이적, 유도성 및 발생-특이적 프로모터의 선택은 당업자의 기술 내에 있다. 유사하게, 뉴클레오티드 서열을 프로모터와 조합하는 것이 또한 당업자의 기술 내에 있다. 프로모터는 비-바이러스성 프로모터 또는 바이러스성 프로모터, 예를 들어 거대세포바이러스(CMV) 프로모터, RSV 프로모터, SV40 프로모터, 또는 뮤린 줄기 세포 바이러스의 긴 말단 반복부에서 발견되는 프로모터일

수 있다.

[0577] 재조합 발현 벡터는 일시적 발현을 위해, 안정한 발현을 위해, 또는 둘 모두를 위해 설계될 수 있다. 또한, 재조합 발현 벡터는 구성적 발현을 위해 또는 유도성 발현을 위해 제조될 수 있다.

[0578] 또한, 재조합 발현 벡터는 자살 유전자를 포함하도록 제조될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "자살 유전자"는 자살 유전자를 발현하는 세포가 죽게 하는 유전자를 지칭한다. 자살 유전자는, 유전자가 발현되는 세포 상에서 작용제, 예를 들어 약물에 대한 감수성을 부여하고, 세포가 작용제와 접촉되거나 그에 노출될 때 세포가 죽게 하는 유전자일 수 있다. 자살 유전자는 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어 단순 헤르페스 바이러스(HSV) 티미딘 키나제(TK) 유전자, 시토신 데아미나제, 퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라제, 및 니트로리덕타제를 포함한다.

[0579] 소정 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된 형태이다. 소정 실시 형태에서, 폴리뉴클레오티드는 실질적으로 순수하다.

[0580] 본 명세서에 기재된 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포가 또한 제공된다. 숙주 세포는 이종 핵산을 함유하는 임의의 세포일 수 있다. 이종 핵산은 벡터(예를 들어, 발현 벡터)일 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 그 세포에 의한 물질의 생성, 예를 들어 그 세포에 의한 유전자, DNA 또는 RNA 서열, 단백질 또는 효소의 발현을 위하여 임의의 방식으로 선택되거나, 변형되거나, 형질전환되거나, 성장되거나, 사용되거나, 조작된 임의의 유기체로부터의 세포일 수 있다. 적절한 숙주가 결정될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 벡터 골격 및 원하는 결과에 기초하여 선택될 수 있다. 예로서, 플라스미드 또는 코스미드가 몇몇 유형의 벡터의 복제를 위하여 원핵 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. DH5α, JM109, 및 KCB, SURE® 컴피턴트 세포, 및 SOLOPACK 골드 세포와 같은 그러나 이로 한정되지 않는 세균 세포가 벡터 복제 및/또는 발현을 위한 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 추가적으로, 세균 세포, 예컨대 E. 콜라이 LE392가 파지 바이러스를 위한 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 숙주 세포로서 사용될 수 있는 진핵 세포는 효모(예를 들어, YPH499, YPH500 및 YPH501), 곤충 및 포유동물을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 벡터의 복제 및/또는 발현을 위한 포유류 진핵생물 숙주 세포의 예에는 HeLa, NIH3T3, Jurkat, 293, COS, Saos, PC12, SP2/0(미국 버지니아주 머내서스 소재의 ATCC(American Type Culture Collection), CRL-1581), NS0(영국 윌트셔주 솔즈베리 소재의 ECACC(European Collection of Cell Cultures), ECACC No. 85110503), FO(ATCC CRL-1646) 및 Ag653(ATCC CRL-1580) 뮤린 세포주가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 예시적인 인간 골수종 세포주는 U266(ATCC CRL-TIB-196)이다. 다른 유용한 세포주는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예를 들어 CHO-K1SV(미국 메릴랜드주 워커스빌 소재의 Lonza Biologics), CHO-K1(ATCC CRL-61) 또는 DG44로부터 유래되는 것들을 포함한다.

[0581] **5.4.결합 분자의 제조, 및 제조 방법**

[0582] 결합 분자(예컨대, 항체)를 제조하는 방법이 기재되어 왔다. 예를 들어, 문헌[Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 9(3): 674 (2014)]을 참조한다. 항체(예컨대, scFv 단편)는 당업계에 알려진 방법을 사용하여 얻어질 수 있는데, 이는, 이를 테면, 낙타과(*Camelid*) 종(예컨대, 낙타 또는 라마)을 면역화하고 그로부터 하이브리도마를 얻음으로써 수행되거나; 또는 당업계에 알려진 분자 생물학 기법을 사용하여 항체들의 라이브러리를 클로닝하고, 후속으로, 선택되지 않은 라이브러리의 개별 클론을 사용하여 ELISA에 의해 선택함으로써 수행되거나; 또는 파지 디스플레이를 사용함으로써 수행된다.

[0583] 본 명세서에 제공된 항체는 항체-인코딩 핵산을 함유하는 벡터로 형질전환되거나 형질감염된 세포를 배양함으로써 생성될 수 있다. 본 발명의 항체의 폴리펩티드 성분을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 표준 재조합 기법을 사용하여 얻어질 수 있다. 원하는 폴리뉴클레오티드 서열은 항체 생성 세포, 예컨대 하이브리도마 세포 또는 B 세포로부터 단리 및 서열분석될 수 있다. 대안적으로, 뉴클레오티드 합성기 또는 PCR 기법을 사용하여 폴리뉴클레오티드가 합성될 수 있다. 일단 얻어지면, 폴리펩티드를 인코딩하는 서열이 숙주 세포에서 이종성 폴리뉴클레오티드를 복제 및 발현할 수 있는 재조합 벡터 내로 삽입된다. 이용가능하고 당업계에 알려진 많은 벡터가 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 적절한 벡터의 선택은 벡터 내로 삽입하고자 하는 핵산의 크기, 및 벡터로 형질전환시키고자 하는 특정 숙주 세포에 주로 좌우될 것이다. 본 발명의 항체를 발현시키기에 적합한 숙주 세포는 원핵생물, 예컨대 고세균(Archaebacteria) 및 진정세균(Eubacteria) - 이에는 그람-음성 또는 그람-양성 유기체가 포함됨 -, 진핵 미생물, 예컨대 사상 진균 또는 효모, 무척추 세포, 예컨대 곤충 또는 식물 세포, 및 척추동물 세포, 예컨대 포유류 숙주 세포주를 포함한다. 숙주 세포는 전술된 발현 벡터로 형질전환되고, 적절한 경우에 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자를 증폭시키도록 변형된 통상적인 영양소 배지 중에서 배양된다. 숙주 세포에 의해 생성된 항체는 당업계

에 알려진 바와 같은 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 정제된다.

[0584] 벡터 작제, 발현, 및 정제를 포함한 항체 생성을 위한 방법이 문헌 [Plückthun *et al.*, Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia coli: From PCR to fermentation 203-52 (McCafferty *et al.* eds., 1996)]; 문헌[Kwong and Rader, *E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments, in* Current Protocols in Protein Science (2009)]; 문헌[Tachibana and Takekoshi, *Production of Antibody Fab Fragments in Escherichia coli, in* Antibody Expression and Production (Al-Rubeai ed., 2011)]; 및 문헌[Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed., 2009)]에 추가로 기재되어 있다.

[0585] 물론, 당업계에 잘 알려진 대안적인 방법이 결합 분자(예컨대, 항체)를 제조하는 데 사용될 수 있다는 것이 고려된다. 예를 들어, 적절한 아미노산 서열 또는 이의 일부분이 고상 기법을 사용하여 직접 펩티드 합성에 의해 생성될 수 있다(예를 들어, 문헌[Stewart *et al.*, Solid-Phase Peptide Synthesis (1969)]; 및 문헌[Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85: 2149-54 (1963)] 참조). 시험관내 단백질 합성이 수동 기법을 사용하여 수행되거나 자동화에 의해 수행될 수 있다. 항체의 다양한 부분들을 별개로 화학적으로 합성하고, 화학적 또는 효소적 방법을 사용하여 조합하여 원하는 항체를 생성할 수 있다. 대안적으로, 항체는, 예를 들어 미국 특허 제5,545,807호 및 제5,827,690호에 개시된 바와 같이, 항체를 발현하도록 조작된 유전자도입 동물의 세포 또는 체액, 예컨대 젖으로부터 정제될 수 있다.

[0586] 다중클론 항체는 일반적으로 관련 항원 및 애쥬번트의 다회의 피하(sc) 또는 복막내(ip) 주사에 의해 동물에서 생성된다. 관련 항원을 이작용성 작용제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 설포석신이미드 에스테르(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시석신이미드(라이신 잔기를 통함), 글루타르알데하이드, 석신산 무수물, $SOCl_2$, 또는 $R^1N=C=NR$(여기서, R 및 R^1은 독립적으로 저급 알킬 기임)을 사용하여, 면역화하려는 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림펫 헤모시아닌(KLH), 혈청 알부민, 소 티로글로불린, 또는 대두 트립신 억제제에 접합하는 것이 유용할 수 있다. 사용될 수 있는 애쥬번트의 예에는 프로인트 완전 애쥬번트 및 MPL-TDM 애쥬번트(모노포스포릴 지질 A, 합성 트레할로스 다이코리노마이콜레이트)가 포함된다. 면역화 프로토콜은 부당한 실험 없이 당업자에 의해 선택될 수 있다.

[0587] 예를 들어, 동물은, 예를 들어 100 μg 또는 5 μg의 단백질 또는 접합체(각각 토끼 또는 마우스에 대해)를 3부피의 프로인트 완전 애쥬번트와 배합하고, 용액을 다수의 부위에서 피내(intradermally) 주사함으로써 항원, 면역원성 접합체, 또는 유도체에 대해 면역화된다. 1개월 후에, 동물을 다수의 부위에서 피하 주사에 의해 프로인트 완전 애쥬번트 중의 펩티드 또는 접합체의 원래 양의 1/5 내지 1/10로 부스팅한다. 7 내지 14일 후에, 동물을 채혈하고, 혈청을 항체 역가에 대해 검정한다. 역가가 평탄화될 때까지 동물을 부스팅한다. 접합체는 또한 단백질 융합체로서 재조합 세포 배양물 중에서 제조될 수 있다. 또한, 명반과 같은 응집제가 면역 반응을 향상시키는 데 적합하다.

[0588] 단일클론 항체는 실질적으로 균질한 항체들의 집단으로부터 수득되며, 즉, 집단을 포함하는 개별 항체들이, 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이 및/또는 번역 후 변형(예를 들어, 이성질화, 아미드화)을 제외하고는 동일하다. 따라서, 수식어 "단일클론"은 개별 항체들의 혼합물이 아니라는 것으로서 항체의 특성을 나타낸다.

[0589] 예를 들어, 단일클론 항체는 문헌[Kohler *et al.*, Nature, 256:495 (1975)]에 의해 최초로 기재된 하이브리도마 방법을 사용하여 제조할 수 있거나, 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다(미국 특허 제4,816,567호).

[0590] 하이브리도마 방법에서는, 적절한 숙주 동물을 면역화하여, 면역화에 사용되는 단백질에 특이적으로 결합할 항체를 생성하거나 생성할 수 있는 림프구를 유도한다. 대안적으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 이어서, 림프구를 폴리에틸렌 글리콜과 같은 적합한 융합제를 사용하여 골수종 세포주와 융합시켜 하이브리도마 세포를 형성한다(문헌[Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)]).

[0591] 면역화제는 전형적으로 항원성 단백질 또는 이의 융합 변이체를 포함할 것이다. 문헌[Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103]. 불멸화된 세포주는 통상 형질전환된 포유류 세포이다. 이렇게 제조된 하이브리도마 세포를 적합한 배양 배지 중에 시딩하고 성장시키며, 이때 배양 배지는 바람직하게는 융합되지 않은 모 골수종 세포의 성장 또는 생존을 억제하는 하나 이상의 물질을

함유한다. 바람직한 불멸화된 골수종 세포는, 효율적으로 융합하며, 선택된 항체-생성 세포에 의한 항체의 안정한 고수준의 생성을 지지하고, HAT 배지와 같은 배지에 민감한 것들이다.

[0592] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지를 항원에 대해 유도된 단일클론 항체의 생성에 대해 검정한다. 하이브리도마 세포가 배양된 배양 배지는 원하는 항원에 대해 유도된 단일클론 항체의 존재에 대해 검정될 수 있다. 그러한 기법 및 검정은 당업계에 알려져 있다. 예를 들어, 결합 친화도는 문헌[Munson *et al.*, Anal. Biochem., 107:220 (1980)]의 스캐차드(Scatchard) 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0593] 원하는 특이성, 친화도, 및/또는 활성의 항체를 생성하는 하이브리도마 세포가 확인된 후에, 제한 희석 절차에 의해 클론을 하위클로닝하고 표준 방법(문헌[Goding, 상기 문헌])에 의해 성장시킬 수 있다. 이러한 목적을 위해 적합한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 또한, 하이브리도마 세포는 포유동물에서 종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다.

[0594] 하위클론에 의해 분비된 단일클론 항체는, 예를 들어 단백질 A-세파로스, 하이드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 또는 친화성 크로마토그래피와 같은 통상적인 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지, 복수액, 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.

[0595] 단일클론 항체는 또한 미국 특허 제4,816,567호에 기재된 것들과 같은 그리고 전술된 바와 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 단일클론 항체를 인코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여(예를 들어, 뮤린 항체의 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 그러한 DNA의 바람직한 공급원으로서의 역할을 한다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터 내로 넣어질 수 있으며, 이어서 이는, 달리 면역글로불린 단백질을 생성하지 않는 숙주 세포, 예컨대 E. 콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 또는 골수종 세포 내로 형질감염되어 그러한 재조합 숙주 세포 내에서 단일클론 항체를 합성한다. 항체를 인코딩하는 DNA의 세균 내에서의 재조합 발현에 대한 리뷰 논문은 문헌[Skerra *et al.*, *Curr. Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993)] 및 문헌[Pliickthun, *Immunol. Revs.* 130:151-188 (1992)]을 포함한다.

[0596] 추가의 실시 형태에서, 항체는 문헌[McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990)], 문헌[Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991)] 및 문헌[Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)]에 기재된 기법을 사용하여 생성된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 후속 간행물은 사슬 셔플링(문헌[Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)])뿐만 아니라, 매우 큰 파지 라이브러리를 작제하기 위한 전략으로서의 조합 감염 및 생체내 재조합(문헌[Waterhouse *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993)])에 의한 고친화도(nM 범위) 인간 항체의 생성을 기술한다. 따라서, 이들 기법은 단일클론 항체의 단리를 위한 전통적인 단일클론 항체 하이브리도마 기법에 대한 실행가능한 대안이다.

[0597] DNA는 또한, 예를 들어, 코딩 서열을 치환함으로써(미국 특허 제4,816,567호; 문헌[Morrison, *et al.*, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984)]), 또는 비-면역글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열의 전부 또는 일부를 코딩 서열에 공유적으로 결합함으로써 변형될 수 있다. 그러한 비-면역글로불린 폴리펩티드는 항원에 대한 특이성을 갖는 하나의 항원-조합 부위 및 상이한 항원에 대해 특이성을 갖는 다른 항원-조합 부위를 포함하는 키메라 2가 항체를 생성하도록 치환될 수 있다.

[0598] 키메라 또는 하이브리드 항체가 또한 가교결합제를 수반하는 것들을 포함한 합성 단백질 화학에서 알려진 방법을 사용하여 시험관내에서 제조될 수 있다. 예를 들어, 면역독소는 이황화물-교환 반응을 사용하여, 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 작제될 수 있다. 이러한 목적에 적합한 시약의 예에는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토부티리미데이트가 포함된다.

[0599] <u>원핵 세포에서의 재조합 생성</u>

[0600] 본 발명의 결합 분자(예컨대, 항체)를 인코딩하는 폴리핵산 서열은 표준 재조합 기법을 사용하여 얻어질 수 있다. 원하는 폴리핵산 서열은 항체 생성 세포, 예컨대 하이브리도마 세포로부터 단리 및 서열분석될 수 있다. 대안적으로, 뉴클레오티드 합성기 또는 PCR 기법을 사용하여 폴리뉴클레오티드가 합성될 수 있다. 일단 얻어지면, 폴리펩티드를 인코딩하는 서열이 원핵생물 숙주에서 이종성 폴리뉴클레오티드를 복제 및 발현할 수 있는 재조합 벡터 내로 삽입된다. 이용가능하고 당업계에 알려진 많은 벡터가 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 적절한 벡터의 선택은 벡터 내로 삽입하고자 하는 핵산의 크기, 및 벡터로 형질전환시키고자 하는 특정 숙주 세포에 주로 좌우될 것이다. 각각의 벡터는 그의 기능(이종성 폴리뉴클레오티드의 증폭 또는 발현, 또는 둘 모두) 및 그것이 체류하는 곳인 특정 숙주 세포와의 그의 양립가능성에 따라 다양한 성분들을 함유한다. 벡터

성분들은 일반적으로 복제 기점, 선택 마커 유전자, 프로모터, 리보솜 결합 부위(RBS), 신호 서열, 이종성 핵산 삽입물 및 전사 종결 서열을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0601] 일반적으로, 숙주 세포와 양립가능한 종으로부터 유래되는 레플리콘 및 제어 서열을 함유하는 플라스미드 벡터가 이들 숙주와 관련하여 사용된다. 벡터는 통상적으로 복제 부위뿐만 아니라, 형질전환된 세포에서 표현형 선택을 제공할 수 있는 마킹 서열을 보유한다. 예를 들어, E. 콜라이는 전형적으로 E. 콜라이 종으로부터 유래되는 플라스미드인 pBR322를 사용하여 형질전환된다. 특정 항체의 발현에 사용되는 pBR322 유도체의 예가 문헌[Carter *et al.*], 미국 특허 제5,648,237호에 상세히 기재되어 있다.

[0602] 또한, 숙주 미생물과 양립가능한 레플리콘 및 제어 서열을 함유하는 파지 벡터가 이들 숙주와 관련하여 형질전환 벡터로서 사용될 수 있다. 예를 들어, GEM™-11과 같은 박테리오파지가 감수성 숙주 세포, 예컨대 E. 콜라이 LE392를 형질전환하는 데 사용될 수 있는 재조합 벡터를 제조하는 데 이용될 수 있다.

[0603] 본 출원의 발현 벡터는 각각의 폴리펩티드 성분을 인코딩하는 2개 이상의 프로모터-시스트론 쌍을 포함할 수 있다. 프로모터는 시스트론에 대해 상류(5')에 위치하여 이의 발현을 조절하는 비번역 조절 서열이다. 원핵생물 프로모터는 전형적으로 2가지 부류, 즉, 유도성 부류 및 구성적 부류에 속한다. 유도성 프로모터는 배양 조건의 변화, 예를 들어 영양소의 존재 또는 부재, 또는 온도의 변화에 반응하여 시스트론의 제어 하에서 시스트론의 증가된 수준의 전사를 개시하는 프로모터이다.

[0604] 다양한 잠재적인 숙주 세포에 의해 인식되는 다수의 프로모터가 잘 알려져 있다. 선택된 프로모터는, 제한 효소 분해를 통해 공급원 DNA로부터 프로모터를 제거하고 단리된 프로모터 서열을 본 출원의 벡터 내로 삽입함으로써 본 항체를 인코딩하는 시스트론 DNA에 작동가능하게 연결될 수 있다. 천연 프로모터 서열 및 많은 이종성 프로모터 둘 모두가 표적 유전자의 증폭 및/또는 발현을 유도하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 이종성 프로모터가 이용되는데, 이들은 일반적으로 천연 표적 폴리펩티드 프로모터와 대비하여, 발현된 표적 유전자의 더 큰 전사 및 더 높은 수율을 가능하게 하기 때문이다.

[0605] 원핵생물 숙주와 함께 사용하기에 적합한 프로모터는 PhoA 프로모터, -갈락타마제 및 락토스 프로모터 시스템, 트립토판(trp) 프로모터 시스템 및 하이브리드 프로모터, 예컨대 tac 또는 trc 프로모터를 포함한다. 그러나, 세균에서 기능적인 다른 프로모터(예컨대, 다른 알려진 세균 프로모터 또는 파지 프로모터)가 마찬가지로 적합하다. 이들의 핵산 서열은 공개되어 있으며, 이로써 숙련된 작업자는 임의의 필요한 제한 부위를 공급하기 위해 링커 또는 어댑터를 사용하여 표적 펩티드를 인코딩하는 시스트론에 이들을 작동가능하게 라이게이션할 수 있다(문헌[Siebenlist *et al.* Cell 20: 269 (1980)]).

[0606] 일 태양에서, 재조합 벡터 내의 각각의 시스트론은 막을 가로질러 발현된 폴리펩티드의 전위(translocation)를 유도하는 분비 신호 서열 성분을 포함한다. 일반적으로, 신호 서열은 벡터의 성분일 수 있거나, 또는 이것은 벡터 내로 삽입된 표적 폴리펩티드 DNA의 일부일 수 있다. 본 발명의 목적을 위해 선택된 신호 서열은 숙주 세포에 의해 인식 및 처리되는(즉, 신호 펩티다제에 의해 절단되는) 것이어야 한다. 이종성 폴리펩티드에 고유한 신호 서열을 인식 및 처리하지 않는 원핵 숙주 세포의 경우, 신호 서열은, 예를 들어 알칼리성 포스파타제, 페니실리나제, Ipp, 또는 열안정성 장독소 II(STII) 리더, LamB, PhoE, PelB, OmpA 및 MBP로 이루어진 군으로부터 선택되는 원핵 신호 서열에 의해 치환될 수 있다.

[0607] 일부 실시 형태에서, 본 발명에 따른 항체의 생성은 숙주 세포의 세포질에서 일어날 수 있으며, 이에 따라 각각의 시스트론 내에서 분비 신호 서열의 존재를 필요로 하지 않는다. 소정의 숙주 균주(예를 들어, E. 콜라이 trxB$^-$ 균주)는 이황화물 결합 형성에 유리한 세포질 조건을 제공하며, 그럼으로써 발현된 단백질 하위단위의 적절한 접힘 및 조립을 가능하게 한다.

[0608] 본 발명의 항체를 발현하기에 적합한 원핵 숙주 세포는 고세균 및 진정세균, 예컨대 그람-음성 또는 그람-양성 유기체를 포함한다. 유용한 세균의 예에는 에스케리키아(*Escherichia*)(예를 들어, E. 콜라이), 바실리(*Bacilli*)(예를 들어, *B.* 수브틸리스), 장내세균(Enterobacteria), 슈도모나스 종(*Pseudomonas species*)(예를 들어, P. 아에루기노사(*P. aeruginosa*)), 살로넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 세라티아 마르세스칸스(*Serratia marcescans*), 클레브시엘라(*Klebsiella*), 프로테우스(*Proteus*), 시겔라(*Shigella*), 리조비아(*Rhizobia*), 비트레오실라(*Vitreoscilla*), 또는 파라콕쿠스(*Paracoccus*)가 포함된다. 일부 실시 형태에서, 그람-음성 세포가 사용된다. 일 실시 형태에서, E. 콜라이 세포가 숙주로서 사용된다. E. 콜라이 균주의 예에는 균주 W3110(문헌[Bachmann, *Cellular and Molecular Biology*, vol. 2 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219]); ATCC Deposit No. 27,325) 및 이의 유도체 - 유전자형

W3110 AfhuA(AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A(nmpc-fepE) degP41 kan^{R}을 갖는 균주 33D3을 포함함(미국 특허 제5,639,635호) - 가 포함된다. 다른 균주 및 이의 유도체, 예컨대 E. 콜라이 294(ATCC 31,446), E. 콜라이 B, E. 콜라이 1776(ATCC 31,537) 및 E. 콜라이 RV308(ATCC 31,608)이 또한 적합하다. 이들 실시예는 제한적이라기보다는 예시적이다. 정의된 유전자형을 갖는 임의의 상기 언급된 세균의 유도체를 작제하기 위한 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어 문헌[Bass *et al.*, Proteins, 8:309-314 (1990)]에 기재되어 있다. 일반적으로, 세균의 세포에서의 레플리콘의 복제가능성(replicability)을 고려하여 적절한 세균을 선택하는 것이 필요하다. 예를 들어, pBR322, pBR325, pACYC177, 또는 pKN410과 같은 잘 알려진 플라스미드가 레플리콘을 공급하는 데 사용될 때, E. 콜라이, 세라티아 또는 살모넬라 종이 숙주로서 적합하게 사용될 수 있다.

[0609] 전형적으로 숙주 세포는 최소량의 단백질 분해 효소를 분비해야 하고, 추가의 프로테아제 억제제가 바람직하게는 세포 배양물 중에 도입될 수 있다.

[0610] 숙주 세포는 전술된 발현 벡터로 형질전환되고, 적절한 경우에 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자를 증폭시키도록 변형된 통상적인 영양소 배지 중에서 배양된다. DNA를 원핵생물 숙주 내로 도입하여 DNA를 복제가능하도록 하기 위한 형질전환 수단은 염색체외 요소로서의 것이거나 염색체 구성요소에 의한 것이다. 사용되는 숙주 세포에 따라, 형질전환은 그러한 세포에 적절한 표준 기법을 사용하여 행해진다. 염화칼슘을 사용하는 칼슘 처리는 일반적으로 실질적인 세포벽 장벽을 함유하는 세균 세포에 사용된다. 형질전환을 위한 다른 방법은 폴리에틸렌 글리콜/DMSO를 사용한다. 사용된 또 다른 기법은 전기천공이다.

[0611] 본 출원의 항체를 생성하는 데 사용되는 원핵 세포는 당업계에 알려져 있고 선택된 숙주 세포의 배양에 적합한 배지 중에서 성장된다. 적합한 배지의 예에는 루리아 브로쓰(luria broth, LB) + 필요한 영양소 보충제가 포함된다. 일부 실시 형태에서, 배지는 또한 발현 벡터의 작제에 기초하여 선택된 선택제를 함유하여, 발현 벡터를 함유하는 원핵 세포의 성장을 선택적으로 가능하게 한다. 예를 들어, 암피실린 저항성 유전자를 발현하는 세포의 성장을 위해 암피실린이 배지에 첨가된다.

[0612] 탄소, 질소, 및 무기 인산염 공급원 이외의 임의의 필요한 보충제가 또한 단독으로 도입되거나 복합 질소 공급원과 같은 다른 보충제 또는 배지와의 혼합물로서 도입되어 적절한 농도로 포함될 수 있다. 선택적으로, 배양 배지는 글루타티온, 시스테인, 시스타민, 티오글리콜레이트, 다이티오에리트리톨 및 다이티오트레이톨로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 환원제를 함유할 수 있다. 원핵 숙주 세포는 적합한 온도 및 pH에서 배양된다.

[0613] 유도성 프로모터가 본 출원의 발현 벡터에 사용되는 경우, 프로모터의 활성화에 적합한 조건 하에서 단백질 발현이 유도된다. 본 출원의 일 태양에서, PhoA 프로모터가 폴리펩티드의 전사를 제어하는 데 사용된다. 따라서, 형질전환된 숙주 세포는 유도를 위해 인산염-제한 배지 중에서 배양된다. 바람직하게는, 인산염-제한 배지는 C.R.A.P 배지이다(예를 들어, 문헌[Simmons *et al.*, *J. Immunol. Methods* 263:133-147 (2002)] 참조). 사용된 벡터 작제물에 따라 다양한 다른 유도제가 사용될 수 있으며, 이는 당업계에 알려진 바와 같다.

[0614] 본 발명의 발현된 항체는 숙주 세포의 주변세포질 내로 분비되고 이로부터 회수된다. 단백질 회수는 전형적으로 미생물을 파괴하는 것을 수반하는데, 이는 일반적으로 삼투 충격, 초음파 처리 또는 용해와 같은 수단에 의해 수행된다. 일단 세포가 파괴되면, 세포 잔해 또는 전세포가 원심분리 또는 여과에 의해 제거될 수 있다. 단백질은, 예를 들어 친화성 수지 크로마토그래피에 의해 추가로 정제될 수 있다. 대안적으로, 단백질은 배양 배지 중에 수송되고 그 안에서 단리될 수 있다. 세포를 배양물로부터 제거하고, 배양 상층액을 여과하고, 생성된 단백질의 추가 정제를 위해 농축시킬 수 있다. 발현된 폴리펩티드는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(PAGE) 및 웨스턴 블롯 검정과 같은 일반적으로 알려진 방법을 사용하여 추가로 단리되고 확인될 수 있다.

[0615] 대안적으로, 단백질 생성은 발효 공정에 의해 대량으로 수행된다. 다양한 대규모 유가 발효(fed-batch fermentation) 절차가 재조합 단백질의 생성에 이용가능하다. 본 발명의 항체의 생성 수율 및 품질을 개선하기 위해, 다양한 발효 조건이 수정될 수 있다. 예를 들어, 샤페론 단백질은 세균 숙주 세포에서 생성된 이종성 단백질의 적절한 접힘 및 용해도를 촉진하는 것으로 입증되었다. 문헌[Chen *et al.* *J Bio Chem* 274:19601-19605 (1999)]; 미국 특허 제6,083,715호; 미국 특허 제6,027,888호; 문헌[Bothmann and Pluckthun, J. Biol. Chem. 275:17100-17105 (2000)]; 문헌[Ramm and Pluckthun, J. Biol. Chem. 275:17106-17113 (2000)]; 문헌[Arie *et al.*, *Mol. Microbiol.* 39:199-210 (2001)].

[0616] 발현된 이종성 단백질(특히 단백질 분해에 대해 민감한 것들)의 단백질 분해를 최소화하기 위해, 단백질 분해

효소가 결핍된 소정의 숙주 균주가, 예를 들어 미국 특허 제5,264,365호; 미국 특허 제5,508,192호; 문헌[Hara *et al.*, *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996)]에 기재된 바와 같이 본 발명에 사용될 수 있다. 단백질 분해 효소가 결핍되고 하나 이상의 샤페론 단백질을 과발현하는 플라스미드로 형질전환된 E. 콜라이 균주가 본 출원의 항체를 인코딩하는 발현 시스템에서 숙주 세포로서 사용될 수 있다.

[0617] 본 명세서에서 생성된 항체는 추가의 검정 및 사용을 위해 실질적으로 균질한 제제를 얻기 위해 추가로 정제될 수 있다. 당업계에 알려진 표준 단백질 정제 방법이 사용될 수 있다. 하기 절차는 적합한 정제 절차의 예시이다: 면역친화성 또는 이온-교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상에서의 또는 양이온-교환 수지, 예컨대 DEAE 상에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 및 예를 들어 Sephadex G-75를 사용한 겔 여과. 예를 들어, 고상(solid phase) 상에 고정화된 단백질 A가 일부 실시 형태에서 본 발명의 결합 분자의 면역친화성 정제에 사용될 수 있다. 단백질 A가 고정화된 고상은 바람직하게는 유리 또는 실리카 표면을 포함하는 컬럼, 더 바람직하게는 제어된 기공 유리 컬럼 또는 규산 컬럼이다. 일부 실시 형태에서, 컬럼은 오염물의 비특이적 접착을 방지하려는 시도에서 시약, 예컨대 글리세롤로 코팅되었다. 이어서, 고상을 세척하여 고상에 비특이적으로 결합된 오염물을 제거한다. 마지막으로, 관심 항체를 용리에 의해 고상으로부터 회수한다.

[0618] <u>진핵 세포에서의 재조합 생성</u>

[0619] 진핵생물 발현을 위해, 벡터 성분은 일반적으로 하기 중 하나 이상을 포함하지만 이로 한정되지 않는다: 신호 서열, 복제 기점, 하나 이상의 마커 유전자, 및 인핸서 요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열.

[0620] 진핵생물 숙주에 사용하기 위한 벡터는 또한 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에 특이적 절단 부위를 갖는 신호 서열 또는 다른 폴리펩티드를 인코딩하는 삽입물일 수 있다. 선택된 이종성 신호 서열은 바람직하게는 숙주 세포에 의해 인식 및 처리되는(즉, 신호 펩티다제에 의해 절단되는) 것이어야 한다. 포유류 세포 발현에서는, 포유류 신호 서열뿐만 아니라 바이러스 분비 리더(viral secretory leader), 예를 들어 단순 헤르페스 gD 신호가 이용가능하다. 그러한 전구체 영역에 대한 DNA는 본 출원의 항체를 인코딩하는 DNA에 리딩 프레임에서 라이게이션될 수 있다.

[0621] 일반적으로, 복제 성분의 기점은 포유류 발현 벡터에 필요하지 않다(SV40 기점이 전형적으로 유일하게 사용될 수 있는데, 이는 조기 프로모터를 함유하기 때문이다).

[0622] 발현 및 클로닝 벡터는 선택 유전자 - 이는 선택가능한 마커라고도 불림 - 를 함유할 수 있다. 선택 유전자는, 항생제 또는 다른 독소, 예를 들어 암피실린, 네오마이신, 메토트렉세이트, 또는 테트라사이클린에 대한 저항성을 부여하거나; 영양요구성 결핍을 보충하거나; 또는 복합 배지로부터 이용가능하지 않은 중요 영양소를 공급하는 단백질을 인코딩할 수 있다.

[0623] 선택 체계의 한 예는 숙주 세포의 성장을 정지시키기 위해 약물을 이용한다. 이종 유전자로 성공적으로 형질전환된 세포는 약물 저항성을 부여하는 단백질을 생성하고, 이로써 선택 계획(selection regimen)을 존속시킨다. 그러한 우세한 선택의 예는 약물 네오마이신, 마이코페놀산 및 하이그로마이신을 사용한다.

[0624] 포유류 세포에 적합한 선택가능한 마커의 다른 예는 본 출원의 항체를 인코딩하는 핵산을 수용하기에 적격한 세포의 확인을 가능하게 하는 것들이다. 예를 들어, DHFR의 경쟁적 길항제인 메토트렉세이트(Mtx)를 함유하는 배양 배지 중에서 모든 형질전환체를 배양함으로써 DHFR 선택 유전자로 형질전환된 세포를 먼저 확인한다. 야생형 DHFR이 사용될 때 예시적인 적절한 숙주 세포는 DHFR 활성이 결핍된 중국 햄스터 난소(CHO) 세포주이다. 대안적으로, 폴리펩티드 인코딩-DNA 서열, 야생형 DHFR 단백질, 및 다른 선택가능한 마커, 예컨대 아미노글리코사이드 3′-포스포트랜스퍼라제(APH)로 공동형질전환되거나 형질전환된 숙주 세포(특히, 내인성 DHFR을 함유하는 야생형 숙주)가, 선택가능한 마커를 위한 선택제, 예컨대 아미노글리코사이드계 항생제를 함유하는 배지 중에서의 세포 성장에 의해 선택될 수 있다.

[0625] 발현 및 클로닝 벡터는 통상, 숙주 유기체에 의해 인식되고 원하는 폴리펩티드 서열을 인코딩하는 핵산에 작동가능하게 연결된 프로모터를 함유한다. 진핵 유전자는 전사가 개시되는 부위로부터 상류에 대략 25 내지 30개의 염기가 위치한 AT-풍부 영역을 갖는다. 많은 유전자의 전사 시작으로부터 상류에 70 내지 80개의 염기가 발견되는 다른 서열이 포함될 수 있다. 대부분의 진핵생물의 3' 단부는 코딩 서열의 3' 단부에 폴리 A 테일을 부가하기 위한 신호일 수 있다. 이들 서열 모두는 진핵생물 발현 벡터 내로 삽입될 수 있다.

[0626] 포유류 숙주 세포에서의 벡터로부터의 폴리펩티드 전사는, 예를 들어, 이종성 포유류 프로모터, 예를 들어 액틴 프로모터 또는 면역글로불린 프로모터로부터, 열충격 프로모터로부터, 바이러스, 예컨대 폴리오마 바이러스, 계

두(fowlpox) 바이러스, 아데노바이러스(예컨대, 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 거대세포바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 시미안(Simian) 바이러스 40(SV40)의 게놈으로부터 얻어진 프로모터에 의해 제어될 수 있되, 단, 그러한 프로모터들은 숙주 세포 시스템과 양립가능해야 한다.

[0627] 고등 진핵생물에 의한 본 발명의 항체를 인코딩하는 DNA의 전사는 종종 벡터 내로 인핸서 서열을 삽입함으로써 증가된다. 포유류 유전자(글로빈, 엘라스타제, 알부민, α-태아단백질, 및 인슐린)로부터의 많은 인핸서 서열이 현재 알려져 있다. 예에는 복제 기점의 후기 측에 있는 SV40 인핸서(bp 100 내지 270), 거대세포바이러스 초기 프로모터 인핸서, 복제 기점의 후기 측에 있는 폴리오마 인핸서, 및 아데노바이러스 인핸서가 포함된다. 또한, 진핵생물 프로모터의 활성화를 위한 요소를 향상시키는 것에 대해서는 문헌[Yaniv, *Nature* 297: 17-18 (1982)]을 참조한다. 인핸서는 폴리펩티드 인코딩 서열에 대해 위치 5′ 또는 3′ 에서 벡터 내로 스플라이싱될 수 있지만, 바람직하게는 프로모터로부터 5′ 에 있는 부위에 위치한다.

[0628] 진핵생물 숙주 세포(효모, 진균, 곤충, 식물, 동물, 인간, 또는 다른 다세포 유기체로부터의 유핵 세포)에 사용되는 발현 벡터는 또한 전사의 종결에 그리고 mRNA를 안정화는 데 필요한 서열을 함유할 수 있다. 그러한 서열은 일반적으로 진핵생물 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 5', 그리고 때때로 3', 비번역 영역으로부터 이용가능하다. 이들 영역은 폴리펩티드-인코딩 mRNA의 비번역 부분에서 폴리아데닐화된 단편으로서 전사된 뉴클레오티드 세그먼트를 함유한다. 하나의 유용한 전사 종결 성분은 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 영역이다.

[0629] 본 명세서에서 벡터 내의 DNA를 클로닝하거나 발현하기에 적합한 숙주 세포는 척추동물 숙주 세포를 포함한 본 명세서에 기재된 고등 진핵생물 세포를 포함한다. 배양(조직 배양)에서의 척추동물 세포의 증식은 일상적인 절차가 되었다. 유용한 포유류 숙주 세포주의 예는 SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주(COS-7, ATCC CRL 1651); 인간 배아 신장 세포주(현탁 배양에서의 성장을 위해 하위클로닝된 293 또는 293 세포, 문헌[Graham *et al.*, *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)]); 새끼 햄스터 신장 세포(BHK, ATCC CCL 10); 중국 햄스터 난소 세포/-DHFR(CHO, 문헌[Urlaub *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980)]); 마우스 세르톨리 세포(TM4, 문헌[Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)]); 원숭이 신장 세포(CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포(VERO-76, ATCC CRL-1587); 인간 자궁경부 암종 세포(HELA, ATCC CCL 2); 개 신장 세포(MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포(W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포(Hep G2, HB 8065); 마우스 유선 종양(MMT 060562, ATCC CCL51); TR1 세포(문헌[Mather *et al.*, *Annals N. Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)]); MRC 5 세포; FS4 세포; 및 인간 간암종 세포주(Hep G2)이다.

[0630] 숙주 세포는 항체 생성을 위해 전술된 발현 또는 클로닝 벡터로 형질전환되고, 적절한 경우에 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선택하거나, 또는 원하는 서열을 인코딩하는 유전자를 증폭시키도록 변형된 통상적인 영양소 배지 중에서 배양될 수 있다.

[0631] 본 출원의 항체를 생성하는 데 사용되는 숙주 세포는 다양한 배지 중에서 배양될 수 있다. 햄(Ham) F10(Sigma), 최소 필수 배지(MEM)(Sigma), RPMI-1640(Sigma), 및 둘베코 변형 이글 배지(DMEM)(Sigma)와 같은 구매가능한 배지가 숙주 세포를 배양하는 데 적합하다. 또한, 문헌[Ham *et al.*, *Meth. Enz.* 58: 44 (1979)], 문헌[Barnes *et al.*, *Anal. Biochem.* 102: 255 (1980)], 미국 특허 제4,767,704호; 제4,657,866호; 제4,927,762호; 제4,560,655호; 또는 제5,122,469호; 국제 특허 출원 공개 WO 90/03430호; WO 87/00195호; 또는 미국 재등록 특허 제30,985호에 기재된 배지 중 임의의 것이 숙주 세포를 위한 배양 배지로서 사용될 수 있다. 임의의 이들 배지는 필요에 따라 호르몬 및/또는 다른 성장 인자(예컨대, 인슐린, 트랜스페린, 또는 표피 성장 인자), 염(예컨대, 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘, 및 인산염), 완충액(예컨대, HEPES), 뉴클레오티드(예컨대, 아데노신 및 티미딘), 항생제(예컨대, GENTAMYCIN™ 약물), 미량 원소(마이크로몰 범위의 최종 농도로 통상 존재하는 무기 화합물로서 정의됨), 및 글루코스 또는 등가 에너지원으로 보충될 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충제가 또한 당업자에게 알려져 있을 적절한 농도로 포함될 수 있다. 배양 조건, 예컨대 온도, pH 등은 발현을 위해 선택된 숙주 세포에 대해 이전에 사용된 것들이며, 당업자에게 명백할 것이다.

[0632] 재조합 기법을 사용할 때, 항체는 세포내에서 생성되거나, 주변세포질 공간에서 생성되거나, 배지 중으로 직접 분비될 수 있다. 항체가 세포내에서 생성되는 경우, 첫 번째 단계로서, 숙주 세포 또는 용해된 단편 중 어느 하나인 미립자 잔해를, 예를 들어 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거한다. 항체가 배지 중으로 분비되는 경우에는, 그러한 발현 시스템으로부터의 상층액을 일반적으로 먼저, 구매가능한 단백질 농축 필터, 예를 들어 Amicon 또는 Millipore Pellicon 한외여과 유닛을 사용하여 농축시킨다. 프로테아제 억제제, 예컨대 PMSF가 단백질 분해를 억제하기 위해 임의의 전술한 단계에 포함될 수 있으며, 항생제가 우발적인 오염물의 성장을 방지

하기 위해 포함될 수 있다.

[0633] 세포로부터 제조된 단백질 조성물은, 예를 들어 하이드록실아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 및 친화성 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있으며, 이때 친화성 크로마토그래피가 바람직한 정제 기법이다. 친화성 리간드가 부착되어 있는 매트릭스는 가장 흔하게는 아가로스이지만, 다른 매트릭스가 이용가능하다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대 제어된 기공 유리 또는 폴리 (스티렌-다이비닐) 벤젠은 아가로스를 사용하여 달성될 수 있는 것보다 더 신속한 유동 속도 및 더 짧은 처리 시간을 가능하게 한다. 단백질 정제를 위한 다른 기법, 예컨대 이온-교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상에서의 크로마토그래피, 헤파린 SEPHAROSE™ 상에서의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 상에서의 크로마토그래피(예컨대, 폴리아스파르트산 컬럼), 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 및 황산암모늄 침전이 또한 회수하려는 항체에 따라 이용가능하다. 임의의 예비 정제 단계(들) 후에, 관심 항체 및 오염물을 포함하는 혼합물은 저 pH 소수성 상호작용 크로마토그래피에 적용될 수 있다.

[0634] **5.5.약제학적 조성물**

[0635] 일 태양에서, 본 발명은 본 발명의 적어도 하나의 결합 분자(예를 들어, 항체)를 포함하는 약제학적 조성물을 추가로 제공한다. 일부 실시 형태에서, 약제학적 조성물은 본 명세서에 제공된 결합 분자의 치료적 유효량 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다.

[0636] 결합 분자를 포함하는 약제학적 조성물이, 원하는 정도의 순도를 갖는 결합 분자를 선택적인 생리학적으로 허용되는 부형제와 혼합함으로써(예를 들어, 문헌[Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1980)] 참조) 수용액 또는 동결건조된 형태 또는 다른 건조된 형태로 저장을 위해 제조된다.

[0637] 본 발명의 결합 분자는 표적 세포/조직으로의 전달을 위한 임의의 적합한 형태로, 예를 들어, 마이크로캡슐 또는 마크로에멀젼으로서(문헌[Remington, 상기 문헌]; 문헌[Park *et al.*, 2005, Molecules 10:146-61]; 문헌[Malik *et al.*, 2007, Curr. Drug. Deliv. 4:141-51]), 지속-방출 제형으로서(문헌[Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol. 16:153-57]), 또는 리포좀으로(문헌[Maclean *et al.*, 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32]; 문헌[Kontermann, 2006, Curr. Opin. Mol. Ther. 8:39-45]) 제형화될 수 있다.

[0638] 본 명세서에 제공된 결합 분자는 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기법에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 각각, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에, 콜로이드상 약물 전달 시스템(예를 들어, 리포좀, 알부민 미소구체, 마이크로에멀젼, 나노입자 및 나노캡슐)에, 또는 매크로에멀젼 내에 봉입될 수 있다. 그러한 기법은, 예를 들어, 문헌[Remington, 상기 문헌]에 개시되어 있다.

[0639] 다양한 조성물 및 전달 시스템이 알려져 있으며, 본 명세서에 기재된 바와 같은 결합 분자와 함께 사용될 수 있으며, 이에는 리포솜, 미세입자, 마이크로캡슐 내에의 캡슐화, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체-매개 엔도사이토시스(예를 들어, 문헌[Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-32] 참조), 레트로바이러스 벡터 또는 다른 벡터 등의 일부로서의 핵산의 작제가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 다른 실시 형태에서, 제어-방출 또는 지속-방출 시스템으로서 조성물이 제공될 수 있다. 일 실시 형태에서는, 제어 방출 또는 지속 방출을 달성하기 위해 펌프가 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Langer, 상기 문헌]; 문헌[Sefton, 1987, Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201-40]; 문헌[Buchwald *et al.*, 1980, Surgery 88:507-16]; 및 문헌[Saudek *et al.*, 1989, N. Engl. J. Med. 321:569-74] 참조). 다른 실시 형태에서는, 본 명세서에 제공된 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 항원-결합 단편) 또는 조성물의 제어 방출 또는 지속 방출을 달성하기 위해 중합체 재료를 사용할 수 있다(예를 들어, 문헌[Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise, eds., 1974)]; 문헌[Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984)]; 문헌[Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61-126]; 문헌[Levy *et al.*, 1985, Science 228:190-92]; 문헌[During *et al.*, 1989, Ann. Neurol. 25:351-56]; 문헌[Howard *et al.*, 1989, J. Neurosurg. 71:105-12]; 미국 특허 제5,679,377호; 제5,916,597호; 제5,912,015호; 제5,989,463호; 및 제5,128,326호; PCT 특허 출원 공개 WO 99/15154호 및 WO 99/20253호 참조). 지속-방출 제형에 사용되는 중합체의 예에는 폴리(2-하이드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-코-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜리드(PLG), 폴리언하이드라이드, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알코올), 폴리아크릴아미드, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리락티드(PLA), 폴리(락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 및 폴리오르토에스테르가 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 일 실시 형태에서, 지속-방출 제형에

사용되는 중합체는 불활성이고, 침출가능한 불순물이 없고, 저장 시에 안정하고, 멸균 상태이고, 생분해성이다.

[0640] 또 다른 실시 형태에서, 제어-방출 또는 지속-방출 시스템은 특정 표적 조직, 예를 들어, 비도(nasal passage) 또는 폐에 근접하여 배치될 수 있으며, 따라서 전신 용량의 소정 분율만을 필요로 한다(예를 들어, 문헌[Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38 (1984)] 참조). 제어-방출 시스템은, 예를 들어, 문헌[Langer, 1990, Science 249:1527-33]에 의해 논의되어 있다. 당업자에게 알려진 임의의 기법을 사용하여 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 지속-방출 제형을 생성할 수 있다(예를 들어, 미국 특허 제4,526,938호, PCT 특허 출원 공개 WO 91/05548호 및 WO 96/20698호, 문헌[Ning *et al.*, 1996, Radiotherapy & Oncology 39:179-89]; 문헌[Song *et al.*, 1995, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97]; 문헌[Cleek *et al.*, 1997, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-54]; 및 문헌[Lam *et al.*, 1997, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-60] 참조).

[0641] **5.6사용 방법**

[0642] 일 태양에서, 예를 들어 대상체에서, HSC를 고갈시키는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 상기 세포를 본 명세서에 제공된 결합 분자(예컨대, 항체)의 유효량에 노출시키는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 방법은 활성화된 HSC를 고갈시키기 위한 것이다.

[0643] 일 태양에서, 예를 들어 대상체에서, HSC를 고갈시키기 위한 본 명세서에 제공된 결합 분자(예컨대, 항체)의 용도가 본 명세서에 제공된다. 일부 실시 형태에서, 결합 분자는 활성화된 HSC를 고갈시키는 데 사용된다.

[0644] 다른 태양에서, 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하는 방법이 본 명세서에 제공되며, 상기 방법은 본 명세서에 제공된 결합 분자(예컨대, 항체 또는 이의 항원-결합 단편)의 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애이다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 간 섬유증이다.

[0645] 다른 태양에서, 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서의 본 명세서에 제공된 결합 분자(예컨대, 항체 또는 이의 항원-결합 단편)의 용도가 본 명세서에 제공된다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애이다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 간 섬유증이다.

[0646] 다른 태양에서, 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서의 본 명세서에 제공된 약제학적 조성물의 용도가 본 명세서에 제공된다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애이다. 일 실시 형태에서, 질병 또는 장애는 간 섬유증이다.

[0647] 일 태양에서, 결합 분자는 실질적으로 정제된다(즉, 이의 효과를 제한하거나 원치 않는 부작용을 야기하는 물질이 실질적으로 없음). 요법을 투여받은 대상체는 포유동물, 예컨대 비영장류(예를 들어, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트 등) 또는 영장류(예를 들어, 원숭이, 예컨대 사이노몰거스 마카크 원숭이, 또는 인간)일 수 있다. 일 실시 형태에서, 대상체는 인간이다. 다른 실시 형태에서, 대상체는 질병 또는 장애를 갖는 인간이다.

[0648] 다양한 전달 시스템이 알려져 있으며, 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자)를 투여하는 데 사용될 수 있으며, 이에는 리포솜, 미세입자, 마이크로캡슐 내에의 캡슐화, 결합 분자를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체-매개 엔도사이토시스(예를 들어, 문헌[Wu and Wu, J. Biol. Chem. 262:4429-4432 (1987)] 참조), 레트로바이러스 벡터 또는 다른 벡터의 일부로서의 핵산의 작제 등이 포함되지만 이로 한정되지 않는다. 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자), 또는 약제학적 조성물을 투여하는 방법은 비경구 투여(예를 들어, 피내, 근육내, 복막내, 정맥내 및 피하), 경막외, 및 점막(예를 들어, 비강내 및 경구 경로)을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 구체적인 실시 형태에서, 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자), 또는 약제학적 조성물은 비강내, 근육내, 정맥내, 또는 피하 투여된다. 예방제 또는 치료제, 또는 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 점막 피부 라이닝(예를 들어, 구강 점막, 비강내 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있으며, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국부적일 수 있다. 추가적으로, 예를 들어, 흡입기 또는 분무기의 사용에 의해, 그리고 에어로졸화제를 이용한 제형의 사용에 의해, 폐 투여가 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,019,968호, 제5,985,320호, 제5,985,309호, 제5,934,272호, 제5,874,064호, 제5,855,913호, 제5,290,540호, 및 제4,880,078호; 및 PCT 특허 출원 공개 WO 92/19244호, WO 97/32572호, WO 97/44013호, WO 98/31346호, 및 WO 99/66903호를 참조하며, 이들 각각은 전체적으로 본 명세서

에 참고로 포함된다.

[0649] 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 예방제 또는 치료제, 또는 약제학적 조성물을 치료를 필요로 하는 영역에 국부적으로 투여하는 것이 바람직할 수 있다. 이는, 예를 들어 제한 없이, 국부 주입에 의해, 국소 투여에 의해(예를 들어, 비강내 분무에 의해), 주사에 의해, 또는 이식물에 의해 달성될 수 있으며, 상기 이식물은 Silastic 막과 같은 막, 또는 섬유를 포함하는 다공성, 비다공성, 또는 젤라틴 재료이다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자를 투여하는 경우, 결합 분자, 예컨대 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 흡수하지 않는 재료를 사용하도록 주의해야 한다.

[0650] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 예방제 또는 치료제, 또는 조성물은 소포, 특히 리포좀 내에 전달될 수 있다(문헌[Langer, 1990, Science 249:1527-1533]; 문헌[Treat *et al.*, in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353-365 (1989)]; 문헌[Lopez-Berestein, 동일 문헌, pp. 317-327] 참조; 일반적으로 동일 문헌 참조).

[0651] 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 예방제 또는 치료제, 또는 조성물은 제어-방출 또는 지속-방출 시스템 내에 전달될 수 있다.

[0652] 본 명세서에 제공된 조성물이 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자)를 인코딩하는 핵산인 구체적인 실시 형태에서는, 예를 들어, 레트로바이러스 벡터의 사용에 의해(미국 특허 제4,980,286호 참조), 또는 직접 주사에 의해, 또는 미세입자 충돌(예를 들어, 유전자 총; Biolistic, Dupont)의 사용에 의해, 또는 지질 또는 세포 표면 수용체 또는 형질감염제를 이용한 코팅에 의해, 또는 핵에 진입하는 것으로 알려진 호메오박스-유사 펩티드에 연결하여 핵산을 투여하는 것(예를 들어, 문헌[Joliot *et al.*, 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:1864-1868] 참조) 등에 의해, 적절한 핵산 발현 벡터의 일부로서 핵산을 작제하고 핵산을 투여하여 그것이 핵산이 세포내에 있도록 함으로써, 핵산을 생체내 투여하여 그의 인코딩된 예방제 또는 치료제의 발현을 촉진할 수 있다. 대안적으로, 상동성 재조합에 의한 발현을 위해 핵산이 세포내로 도입되고 숙주 세포 DNA 내에 도입될 수 있다.

[0653] 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 1개, 2개, 또는 그 이상의 본 명세서에 제공된 결합 분자를 포함한다. 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 1개, 2개, 또는 그 이상의 본 명세서에 제공된 결합 분자 및 본 명세서에 제공된 결합 분자 이외의 예방제 또는 치료제를 포함한다. 일 실시 형태에서, 이들 작용제는 질병 또는 장애의 예방, 관리, 치료, 및/또는 호전에 유용한 것으로 알려져 있거나, 이를 위해 사용되었거나, 현재 사용된다. 예방제 또는 치료제에 추가하여, 본 명세서에 제공된 조성물은 또한 부형제를 포함할 수 있다.

[0654] 본 명세서에 제공된 조성물은 단위 투여 형태의 제조에 사용될 수 있는 약제학적 조성물(예를 들어, 대상체 또는 환자에게 투여하기에 적합한 조성물)의 제조에 유용한 벌크 약물 조성물을 포함한다. 일 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 조성물은 약제학적 조성물이다. 그러한 조성물은 하나 이상의 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자, 또는 다른 예방제 또는 치료제)의 예방적 또는 치료적 유효량, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함한다. 약제학적 조성물은 대상체에 대한 투여 경로에 적합하도록 제형화될 수 있다.

[0655] 구체적인 실시 형태에서, 용어 "부형제"는 또한 희석제, 애쥬번트(예를 들어, 프로인트 애쥬번트(완전 또는 불완전)), 또는 비히클을 지칭할 수 있다. 약제학적 부형제는 석유, 동물, 식물 또는 합성 기원의 것들, 예컨대 낙화생유, 대두유, 광유, 참기름 등을 포함하는, 물 및 오일과 같은 멸균 액체일 수 있다. 약제학적 조성물이 정맥내 투여되는 경우에 물이 예시적인 부형제이다. 식염수 용액, 및 덱스트로스 및 글리세롤 수용액이 또한, 특히 주사 용액을 위한 액체 부형제로서 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제는 전분, 글루코스, 락토스, 수크로스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 곡분, 백악, 실리카 겔, 소듐 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 활석, 염화나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등을 포함한다. 조성물은, 필요하다면, 미량의 습윤제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 또한 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 현탁액, 에멀젼, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속-방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 경구 제형은 제약 등급의 만니톨, 락토스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 사카린, 셀룰로스, 탄산마그네슘 등과 같은 표준 부형제를 포함할 수 있다. 적합한 약제학적 부형제의 예는 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA]에 기재되어 있다. 그러한 조성물은 환자에 대한 적절한 투여를 위한 형태를 제공하도록 부형제의 적합한 양과 함께, 예를 들어 정제된 형태의 본 명세서에 제공된 결합 분자의 예방적 또는 치료적 유효량을 함유할 것이다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

[0656] 일 실시 형태에서, 조성물은 인간에 대한 정맥내 투여용으로 구성된 약제학적 조성물로서 일상적인 절차에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여를 위한 조성물은 멸균 등장성 완충 수용액 형태의 용액이다. 필요한 경우, 조성물은 또한 주사 부위에서 통증을 완화시키기 위해 리그노카인과 같은 국부 마취제 및 가용화제를 포함할 수 있다. 그러나, 그러한 조성물은 정맥내 경로 이외의 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0657] 일반적으로, 본 명세서에 제공된 조성물의 성분들은, 예를 들어, 활성제의 양을 표시하는 앰플 또는 사셰와 같은 밀폐 용기 내에 건조 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서, 단위 투여 형태로 함께 혼합되거나 개별적으로 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여될 경우, 그것은 멸균 제약 등급의 물 또는 식염수가 담긴 주입 병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우, 투여 전에 성분들이 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수 또는 식염수의 앰플이 제공될 수 있다.

[0658] 본 명세서에 제공된 결합 분자는 결합 분자의 양을 표시하는 앰플 또는 사셰와 같은 밀폐 용기 내에 포장될 수 있다. 일 실시 형태에서, 결합 분자는 밀폐 용기 내에 건조 멸균 동결건조된 분말 또는 무수 농축물로서 공급되며, 예를 들어, 물 또는 식염수를 이용하여 대상체에게 투여하기에 적절한 농도로 재구성될 수 있다. 동결건조된 결합 분자는 그의 원래의 용기 내에 2 내지 8℃에서 저장될 수 있고 결합 분자는 재구성된 후 12시간 이내, 예컨대 6시간 이내, 5시간 이내, 3시간 이내, 또는 1시간 이내에 투여될 수 있다. 대안적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 항체의 양 및 농도를 표시하는 밀폐 용기 내에 액체 형태로 공급된다.

[0659] 본 명세서에 제공된 조성물은 중성 또는 염 형태로서 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용되는 염은 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산으로부터 유래된 것들과 같은 음이온으로 형성된 것들, 및 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 수산화제2철, 아이소프로필아민, 트라이에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유래된 것들과 같은 양이온으로 형성된 것들을 포함한다.

[0660] 질병 또는 장애의 예방 및/또는 치료에 효과적일 본 명세서에 제공된 예방제 또는 치료제(예를 들어, 본 명세서에 제공된 결합 분자), 또는 조성물의 양은 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다. 게다가, 최적의 투여량 범위를 확인하는 것을 돕기 위해 시험관내 검정이 선택적으로 사용될 수 있다. 제형에 사용되는 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질병 또는 장애의 심각도에 좌우될 것이며, 전문의의 판단 및 각각의 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다.

[0661] 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 시험 시스템으로부터 도출되는 용량-반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

[0662] 소정 실시 형태에서, 환자에 대한 본 명세서에 제공된 결합 분자의 용량에 대한 투여 경로는 비강내, 근육내, 정맥내, 피하, 또는 이들의 조합이지만, 본 명세서에 기재된 다른 경로가 또한 허용가능하다. 각각의 용량은 동일한 투여 경로에 의해 투여될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 본 명세서에 제공된 동일한 또는 상이한 결합 분자의 다른 용량에 대해 후속으로 또는 동시에 다수의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다.

[0663] 소정 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 결합 분자는 대상체에게 예방적으로 또는 치료적으로 투여된다. 본 명세서에 제공된 결합 분자는 질병 또는 이의 증상을 예방, 감소, 또는 호전시키도록 대상체에게 예방적으로 또는 치료적으로 투여될 수 있다.

[0664] **5.7.유전자 요법 및 세포 요법**

[0665] 구체적인 실시 형태에서, 결합 분자 또는 이의 기능성 유도체를 인코딩하는 서열을 포함하는 핵산은 본 명세서에 제공된 방법에 사용하기 위해, 예를 들어 유전자 요법에 의해 활성화된 HSC 관련 질병 또는 장애를 예방, 관리, 치료 및/또는 호전시키기 위해 대상체에게 투여된다. 그러한 요법은 발현된 또는 발현가능한 핵산을 대상체에게 투여함으로써 수행되는 것을 포함한다. 일 실시 형태에서, 핵산은 그의 인코딩된 항체를 생성하고, 항체는 예방적 또는 치료적 효과를 매개한다.

[0666] 당업계에서 이용가능한 재조합 유전자 발현(또는 유전자 요법)을 위한 임의의 방법이 사용될 수 있다.

[0667] 유전자 요법의 방법에 대한 일반적인 검토를 위해서는, 문헌[Goldspiel *et al.*, 1993, Clinical Pharmacy 12:488-505]; 문헌[Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95]; 문헌[Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596]; 문헌[Mulligan, 1993, Science 260:926-932]; 및 문헌[Morgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217]; 문헌[May, 1993, TIBTECH 11(5):155-215]을 참조한다. 사용될 수 있는, 당업계에 일반적으로 알려진 재조합 DNA 기술의 방법은 문헌[Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)]; 및 문헌[Kriegler, Gene Transfer and Expression, A

Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)]에 기재되어 있다.

[0668] 구체적인 실시 형태에서, 조성물은 본 명세서에 제공된 결합 분자(예컨대, 항체)를 인코딩하는 핵산을 포함하며, 상기 핵산은 적합한 숙주 내에서 상기 결합 분자(예컨대, 항체 또는 이의 키메라 단백질 또는 중쇄 또는 경쇄)를 발현하는 발현 벡터의 일부이다. 특히, 그러한 핵산은 코딩 영역에 작동가능하게 연결된 프로모터, 예컨대 이종성 프로모터를 가지며, 상기 프로모터는 유도성 또는 구성적, 및 선택적으로, 조직-특이적이다. 다른 특정 실시 형태에서, 코딩 서열 및 임의의 다른 원하는 서열이 게놈 내의 원하는 부위에서 상동성 재조합을 촉진시키는 영역에 의해 플랭킹되어, 인코딩 핵산의 염색체내 발현을 제공하는 핵산 분자가 사용된다(문헌[Koller and Smithies, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935]; 문헌[Zijlstra et al., 1989, Nature 342:435-438]).

[0669] 대상체 내로의 핵산의 전달은 직접적 - 이 경우에는 대상체를 핵산 또는 핵산-운반 벡터에 직접 노출시킴 - 일 수 있거나, 또는 간접적 - 이 경우에는 세포를 먼저 시험관내에서 핵산을 사용하여 형질전환시키고, 이어서 대상체 내로 이식함 - 일 수 있다. 이들 두 가지 접근법은 생체내 또는 생체외(*ex vivo*) 유전자 요법으로서 각각 알려져 있다.

[0670] 구체적인 실시 형태에서, 핵산 서열은 생체내에 직접 투여되며, 여기서 서열이 발현되어 인코딩된 생성물을 생성한다. 이는 당업계에 알려진 임의의 다수의 방법에 의해 달성될 수 있으며, 예를 들어 이들을 적절한 핵산 발현 벡터의 일부로서 작제하고 벡터를 투여하여 서열이 세포내에 있게 되도록 함으로써, 예를 들어 결손성 또는 약독화 레트로바이러스 또는 다른 바이러스 벡터를 사용하여 감염시킴으로써(미국 특허 제4,980,286호 참조), 또는 외피 비보유(naked) DNA의 직접 주사에 의해, 또는 미세입자 충격(예를 들어, 유전자 총; Biolistic, Dupont)의 사용에 의해, 또는 지질 또는 세포 표면 수용체 또는 형질감염제에 의한 코팅, 리포좀, 미세입자, 또는 마이크로캡슐 내에의 캡슐화에 의해, 또는 핵에 들어가는 것으로 알려진 펩티드에 연결하여 이들을 투여함으로써, 수용체-매개 엔도사이토시스를 받게 되는 리간드에 연결하여 그것을 투여함으로써(예를 들어, 문헌[Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432] 참조)(이는 수용체를 특이적으로 발현하는 세포 유형을 표적화하는 데 사용될 수 있음) 행해지는 방법 등이 있다. 다른 실시 형태에서, 핵산-리간드 복합체가 형성될 수 있으며, 여기서 리간드는, 엔도솜을 파괴하여 핵산이 리소좀 분해를 피할 수 있게 하는 융합유도성(fusogenic) 바이러스 펩티드를 포함한다. 또 다른 실시 형태에서, 핵산은, 특이적 수용체를 표적화함으로써, 세포 특이적 흡수 및 발현을 위해 생체내에서 표적화될 수 있다(예를 들어, PCT 특허 출원 공개 WO 92/06180호; WO 92/22635호; WO 92/20316호; WO93/14188호, WO 93/20221호 참조). 대안적으로, 상동성 재조합에 의한 발현을 위해 핵산이 세포내로 도입되고 숙주 세포 DNA 내에 도입될 수 있다(문헌[Koller and Smithies, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935]; 및 문헌[Zijlstra et al., 1989, Nature 342:435-438]).

[0671] 구체적인 실시 형태에서, 펩티드를 인코딩하는 핵산 서열을 함유하는 바이러스 벡터가 사용된다. 예를 들어, 레트로바이러스 벡터가 사용될 수 있다(문헌[Miller *et al.*, 1993, Meth. Enzymol. 217:581-599] 참조). 이들 레트로바이러스 벡터는 바이러스 게놈의 올바른 패키징 및 숙주 세포 DNA 내로의 통합에 필요한 성분을 함유한다. 유전자 요법에 사용될 결합 분자를 인코딩하는 핵산 서열은 대상체 내로의 유전자의 전달을 용이하게 하는 하나 이상의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 레트로바이러스 벡터에 대한 더 상세한 내용은 문헌[Boesen et al., 1994, Biotherapy 6:291-302]에서 찾아볼 수 있으며, 이 문헌은 조혈 줄기 세포를 화학요법에 대해 더 저항성이 되게 하기 위해 MDR1 유전자를 조혈 줄기 세포에 전달하기 위한 레트로바이러스 벡터의 용도를 기재한다. 유전자 요법에서 레트로바이러스 벡터의 사용을 예시하는 다른 참고문헌은 문헌[Clowes *et al.*, 1994, J. Clin. Invest. 93:644-651]; 문헌[Klein *et al.*, 1994, Blood 83:1467-1473]; 문헌[Salmons and Gunzberg, 1993, Human Gene Therapy 4:129-141]; 및 문헌[Grossman and Wilson, 1993, Curr. Opin. in Genetics and Devel. 3:110-114]이다.

[0672] 아데노바이러스는 결합 분자(예컨대, 항체)의 재조합 생성에 사용될 수 있는 다른 바이러스 벡터이다. 아데노바이러스는 호흡기 상피에 유전자를 전달하기 위한 특히 매력적인 비히클이다. 아데노바이러스는 자연적으로 호흡기 상피를 감염시키며, 여기서 이들은 경도의 질병을 야기한다. 아데노바이러스-기반 전달 시스템에 대한 다른 표적은 간, 중추 신경계, 내피 세포, 및 근육이다. 아데노바이러스는 비분열성 세포를 감염시킬 수 있다는 이점을 갖는다. 문헌[Kozarsky and Wilson, 1993, Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503]은 아데노바이러스-기반 유전자 요법에 대한 검토를 제시한다. 문헌[Bout *et al.*, 1994, Human Gene Therapy 5:3-10]은 레서스 원숭이의 호흡기 상피에 유전자를 전달하기 위한 아데노바이러스 벡터의 사용을 입증하였다. 유전자 요법에서의 아데노바이러스의 사용의 다른 경우는 문헌[Rosenfeld *et al.*, 1991, Science 252:431-434]; 문헌[Rosenfeld *et al.*, 1992, Cell 68:143-155]; 문헌[Mastrangeli *et al.*, 1993, J. Clin.

Invest. 91:225-234]; PCT 특허 출원 공개 WO94/12649호; 및 문헌[Wang *et al.*, 1995, Gene Therapy 2:775-783]에서 찾아볼 수 있다. 구체적인 실시 형태에서, 아데노바이러스 벡터가 사용된다.

[0673] 아데노-관련 바이러스(AAV)가 또한 이용될 수 있다(문헌[Walsh *et al.*, 1993, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 204:289-300]; 및 미국 특허 제5,436,146호). 구체적인 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 바와 같은 항체를 발현시키기 위해 AAV 벡터가 사용된다. 소정 실시 형태에서, AAV는 VH 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함한다. 다른 실시 형태에서, AAV는 VL 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함한다. 소정 실시 형태에서, AAV는 VH 도메인 및 VL 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함한다. 본 명세서에 제공된 방법의 일부 실시 형태에서, VH 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함하는 AAV 및 VL 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함하는 AAV가 대상체에게 투여된다. 다른 실시 형태에서, VH 도메인 및 VL 도메인을 인코딩하는 핵산을 포함하는 AAV가 대상체에게 투여된다. 소정 실시 형태에서, VH 및 VL 도메인은 과발현된다.

[0674] 유전자 요법에 대한 다른 접근법은 전기천공, 리포펙션, 인산칼슘 매개 형질감염, 또는 바이러스성 감염과 같은 방법에 의해 유전자를 조직 배양 중인 세포에 전달하는 것을 포함한다. 통상적으로, 전달 방법은 세포에 대한 선택가능한 마커의 전달을 포함한다. 이어서, 세포를 선택 하에 두어서, 전달된 유전자를 흡수하여 이를 발현하고 있는 세포를 단리한다. 이어서, 이들 세포를 대상체에게 전달한다.

[0675] 이 실시 형태에서, 핵산은 생성되는 재조합 세포를 생체내에 투여하기 전에 세포 내로 도입된다. 그러한 도입은 형질감염, 전기천공, 현미주사(microinjection), 핵산 서열을 함유하는 바이러스 벡터 또는 박테리오파지 벡터에 의한 감염, 세포 융합, 염색체-매개 유전자 전달, 마이크로세포-매개 유전자 전달, 스페로플라스트(spheroplast) 융합 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는 당업계에 알려진 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 세포 내로의 외래 유전자의 도입을 위한 다수의 기법이 당업계에 알려져 있으며(예를 들어, 문헌[Loeffler and Behr, 1993, Meth. Enzymol. 217:599-618]; 문헌[Cohen *et al.*, 1993, Meth. Enzymol. 217:618-644]; 문헌[Clin. Pharma. Ther. 29:69-92 (1985)] 참조), 본 명세서에 제공된 방법에 따라 사용될 수 있되, 단 이는, 수용 세포의 필요한 발달적 및 생리학적 기능은 파괴되지 않는다는 조건에서이다. 이러한 기법은, 핵산이 세포에 의해 발현가능하도록, 이를 테면 유전성을 나타내고 그의 세포 자손에 의해 발현가능하도록, 세포에 대한 핵산의 안정한 전달을 제공해야 한다.

[0676] 생성되는 재조합 세포는 당업계에 알려진 다양한 방법에 의해 대상체로 전달될 수 있다. 재조합 혈액 세포(예를 들어, 조혈 줄기 세포 또는 선조 세포)가 정맥내 투여될 수 있다. 사용을 위해 고려되는 세포의 양은 원하는 효과, 환자 상태 등에 좌우되며, 당업자에 의해 결정될 수 있다.

[0677] 유전자 요법의 목적을 위해 핵산을 도입할 수 있는 세포는 임의의 원하는 이용가능한 세포 유형을 포함하며, 상피 세포, 내피 세포, 각질세포, 섬유아세포, 근육 세포, 간세포; 혈액 세포, 예컨대 T 림프구, B 림프구, 단핵구, 대식세포, 호중구, 호산구, 거핵구, 과립구; 다양한 줄기 세포 또는 선조 세포, 특히 조혈 줄기 세포 또는 선조 세포, 예를 들어 골수, 제대혈, 말초 혈액, 태아 간 등으로부터 얻어지는 바와 같은 것을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0678] 구체적인 실시 형태에서, 유전자 요법을 위해 사용되는 세포는 대상체에 대해 자가(autologous)이다.

[0679] 재조합 세포가 유전자 요법에 사용되는 일 실시 형태에서는, 항체를 인코딩하는 핵산 서열을 세포 내로 도입하여, 이들을 세포 또는 이의 자손에 의해 발현가능하게 되도록 하고, 이어서 재조합 세포를 치료적 효과를 위해 생체내 투여한다. 구체적인 실시 형태에서, 줄기 세포 또는 선조 세포가 사용된다. 시험관내에서 단리되고 유지될 수 있는 임의의 줄기 세포 및/또는 선조 세포는 잠재적으로 본 명세서에 제공된 방법의 이 실시 형태에 따라 사용될 수 있다(예를 들어, PCT 특허 출원 공개 WO 94/08598호; 문헌[Stemple and Anderson, 1992, Cell 71:973-985]; 문헌[Rheinwald, 1980, Meth. Cell Bio. 21A:229]; 및 문헌[Pittelkow and Scott, 1986, Mayo Clinic Proc. 61:771] 참조).

[0680] 구체적인 실시 형태에서, 유전자 요법을 목적으로 도입되는 핵산은 코딩 영역에 작동가능하게 연결된 유도성 프로모터를 포함하며, 이로써 전사의 적절한 유도인자의 존재 또는 부재를 제어함으로써 핵산의 발현이 제어가능하게 한다.

[0681] 다른 태양에서, 본 명세서에 제공된 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 조작된 세포 표면 수용체, 예컨대 키메라 항원 수용체(CAR)의 일부일 수 있다. 전형적으로, CAR은 세포외 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0682] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 하나 이상의 항체 또는 이의 단편을 포함하는 세포외 도메인을 포함하

는 CAR이 본 명세서에 제공된다.

[0683] 본 발명의 CAR은 세포외 항원-결합 도메인에 직접 또는 간접적으로 융합될 수 있는 막관통 도메인을 포함한다. 막관통 도메인은 천연 공급원으로부터 또는 합성 공급원으로부터 유래될 수 있다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "막관통 도메인"은 세포막, 바람직하게는 진핵 세포막에서 열역학적으로 안정한 임의의 단백질 구조를 지칭한다. 본 명세서에 기재된 CAR에 사용하기에 적합한 막관통 도메인은 자연 발생 단백질로부터 얻어질 수 있다. 대안적으로, 이는 합성 비자연 발생 단백질 세그먼트, 예를 들어 세포막에서 열역학적으로 안정한 소수성 단백질 세그먼트일 수 있다. 막관통 도메인은 막관통 도메인의 3차원 구조에 기초하여 분류된다. 예를 들어, 막관통 도메인은 알파 나선, 하나 초과의 알파 나선의 복합체, 베타-배럴, 또는 세포의 인지질 이중층에 걸쳐 있을 수 있는 임의의 다른 안정한 구조를 형성할 수 있다. 더욱이, 막관통 도메인은 또한 또는 대안적으로, 막관통 도메인이 막을 가로지르는 통과 횟수 및 단백질의 배향을 포함한 막관통 도메인 토폴로지에 기초하여 분류될 수 있다. 예를 들어, 단회-통과 막 단백질은 세포막을 1회 가로지르고, 다회-통과 막 단백질은 적어도 2회(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7회 또는 그 이상의 횟수) 세포막을 가로지른다. 막 단백질은 세포의 내부 및 외부와 대비하여 그들의 말단의 토폴로지 및 막-통과 세그먼트(들)에 따라 I형, II형 또는 III형으로 정의될 수 있다. I형 막 단백질은 단일 막-스패닝 영역을 가지며, 단백질의 N-말단은 세포의 지질 이중층의 세포외 측에 존재하고 단백질의 C-말단은 세포질 측에 존재하도록 배향된다. II형 막 단백질은 또한 단일 막-스패닝 영역을 갖지만, 단백질의 C-말단은 세포의 지질 이중층의 세포외 측에 존재하고 단백질의 N-말단은 세포질 측에 존재하도록 배향된다. III형 막 단백질은 다수의 막-스패닝 세그먼트를 가지며, 막관통 세그먼트의 수 및 N-말단 및 C-말단의 위치에 기초하여 추가로 하위분류될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 CAR의 막관통 도메인은 I형 단회-통과 막 단백질로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 다회-통과 막 단백질로부터의 막관통 도메인은 또한 본 명세서에 기재된 CAR에 사용하기에 적합할 수 있다. 다회-통과 막 단백질은 복합(적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 그 이상) 알파 나선 또는 베타 시트 구조를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 다회-통과 막 단백질의 N-말단과 C-말단은 지질 이중층의 서로 반대편 측에 존재하고, 예를 들어 단백질의 N-말단은 지질 이중층의 세포질 측에 존재하고 단백질의 C-말단은 세포외 측에 존재한다. 일부 실시 형태에서, CAR의 막관통 도메인은 T-세포 수용체의 알파, 베타 또는 제타 사슬, CD28, CD3 엡실론, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1(CD1 1a, CD18), ICOS(CD278), 4-1BB(CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM(LIGHTR), SLAMF7, NKp80(KLRF1), CD160, CD19, IL-2R 베타, IL-2R 감마, IL-7R a, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD1 1d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD1 1a, LFA-1, ITGAM, CD1 1b, ITGAX, CD1 1c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1(CD226), SLAMF4(CD244, 2B4), CD84, CD96(Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9(CD229), CD160(BY55), PSGL1, CDIOO(SEMA4D), SLAMF6(NTB-A, Ly108), SLAM(SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME(SLAMF8), SELPLG(CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D, 및/또는 NKG2C의 막관통 도메인으로부터 선택되는 막관통 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 막관통 도메인은 CD8α, CD4, CD28, CD137, CD80, CD86, CD152 및 PD1로 이루어진 군으로부터 선택되는 분자로부터 유래된다.

[0684] 본 명세서에 기재된 CAR에 사용하기 위한 막관통 도메인은 또한 합성 비자연 발생 단백질 세그먼트의 적어도 일부분을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 막관통 도메인은 합성 비자연 발생 알파 나선 또는 베타 시트이다. 일부 실시 형태에서, 단백질 세그먼트는 적어도 대략 20개의 아미노산, 예를 들어 적어도 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30개, 또는 그 이상의 아미노산이다. 합성 막관통 도메인의 예는 당업계에, 예를 들어 미국 특허 제7,052,906호 및 PCT 공개 WO 2000/032776호에 알려져 있으며, 이들의 관련 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0685] 본 명세서에 제공된 막관통 도메인은 막관통 영역, 및 막관통 도메인의 C-말단 측에 위치된 세포질 영역을 포함할 수 있다. 막관통 도메인의 세포질 영역은 3개 이상의 아미노산을 포함할 수 있으며, 일부 실시 형태에서는 지질 이중층 내에 막관통 도메인을 배향하는 데 도움이 된다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기가 막관통 도메인의 막관통 영역에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 시스테인 잔기가 막관통 도메인의 세포질 영역에 존재한다. 일부 실시 형태에서, 막관통 도메인의 세포질 영역은 양으로 하전된 아미노산을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 막관통 도메인의 세포질 영역은 아르기닌, 세린, 및 라이신 아미노산을 포함한다.

[0686] 일부 실시 형태에서, 막관통 도메인의 막관통 영역은 소수성 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 제공된 CAR의 막관통 도메인은 인공 소수성 서열을 포함한다. 예를 들어, 페닐알라닌, 트립토판 및 발린의 삼중체가 막관통 도메인의 C 말단에 존재할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 막관통 영역은 주로 소수

성 아미노산 잔기, 예컨대 알라닌, 류신, 아이소류신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트립토판, 또는 발린을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 막관통 영역은 소수성이다. 일부 실시 형태에서, 막관통 영역은 폴리-류신-알라닌 서열을 포함한다. 단백질 또는 단백질 세그먼트의 하이드로파시(hydropathy), 또는 소수성 또는 친수성 특성은 당업계에 알려진 임의의 방법, 예를 들어 카이트(Kyte) 및 두리틀(Doolittle) 하이드로파시 분석에 의해 평가될 수 있다.

[0687] 본 발명의 CAR은 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인은 CAR을 발현하는 면역 이펙터 세포의 정상 이펙터 기능 중 적어도 하나의 활성화를 담당한다. 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특수화된 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있으며, 이에는 사이토카인의 분비가 포함된다. 따라서, 용어 "세포질 신호전달 도메인"은, 이펙터 기능 신호를 전달하고 세포가 특수화된 기능을 수행하도록 유도하는 단백질의 일부분을 지칭한다. 통상 전체 세포질 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 사슬을 사용하는 것이 반드시 필요한 것은 아니다. 세포질 신호전달 도메인의 절단된 부분이 사용되는 한에 있어서, 그러한 절단된 부분은 그것이 이펙터 기능 신호를 전달하기만 한다면 온전한 사슬 대신에 사용될 수 있다. 따라서, 용어 "세포질 신호전달 도메인"은 이펙터 기능 신호를 전달하기에 충분한 세포질 신호전달 도메인의 임의의 절단된 부분을 포함하는 것으로 의미된다.

[0688] 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역 이펙터 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, CAR은 면역 이펙터 세포의 1차 세포내 신호전달 도메인으로 본질적으로 이루어진 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. "1차 세포내 신호전달 도메인"은 면역 이펙터 기능을 유도하기 위해 자극성 방식으로 작용하는 세포질 신호전달 서열을 지칭한다. 일부 실시 형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프, 또는 ITAM으로 알려진 신호전달 모티프를 함유한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "ITAM"은 많은 면역 세포에서 발현되는 신호전달 분자의 테일 부분에 일반적으로 존재하는 보존된 단백질 모티프이다. 이 모티프는 6 내지 8개 아미노산에 의해 분리된 아미노산 서열 YxxL/I의 2개의 반복부를 포함할 수 있으며, 여기서 각각의 x는 독립적으로, 보존된 모티프 YxxL/Ix(6-8)YxxL/I를 생성하는 임의의 아미노산이다. 신호전달 분자 내의 ITAM은 세포 내에서의 신호 전달에 중요하며, 이는 신호전달 분자의 활성화 후 ITAM 내의 티로신 잔기의 인산화에 의해 적어도 부분적으로 매개된다. ITAM은 또한 신호전달 경로에 수반되는 다른 단백질에 대한 도킹 부위로서 기능할 수 있다. 예시적인 ITAM-함유 1차 세포질 신호전달 서열은 CD3ζ, FcR 감마(FCER1G), FcR 베타(Fc 엡실론 Rib), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD5, CD22, CD79a, CD79b, 및 CD66d로부터 유래되는 것들을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 1차 세포내 신호전달 도메인은 CD3ζ로부터 유래된다.

[0689] 많은 면역 이펙터 세포는 세포 증식, 분화 및 생존을 촉진시키기 위해, 이뿐만 아니라 세포의 이펙터 기능을 활성화하기 위해, 항원-특이적 신호의 자극 외에도 공동자극을 필요로 한다. 일부 실시 형태에서, CAR은 적어도 하나의 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "공동자극성 신호전달 도메인"은 이펙터 기능과 같은 면역 반응을 유도하기 위해 세포 내에서 신호 전달을 매개하는 단백질의 적어도 일부분을 지칭한다. 본 명세서에 기재된 키메라 수용체의 공동자극성 신호전달 도메인은 공동자극성 단백질로부터의 세포질 신호전달 도메인일 수 있으며, 이는 신호를 전달하고 면역 세포, 예컨대 T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구에 의해 매개되는 반응을 조절한다. "공동자극성 신호전달 도메인"은 공동자극성 분자의 세포질 부분일 수 있다. 용어 "공동자극성 분자"는 공동자극성 리간드와 특이적으로 결합함으로써, 증식 및 생존과 같은 그러나 이로 한정되지 않는 면역 세포(예컨대, T 세포)에 의한 공동자극성 반응을 매개하는 면역 세포 상의 동종 결합 파트너를 지칭한다.

[0690] 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 단일 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상(예컨대, 약 2, 3, 4개 또는 그 이상 중 어느 하나의 개수)의 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 2개 이상의 동일한 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 상이한 공동자극성 단백질, 예컨대 본 명세서에 기재된 임의의 2개 이상의 공동자극성 단백질로부터의 2개 이상의 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3ζ의 세포질 신호전달 도메인) 및 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인과 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3ζ의 세포질 신호전달 도메인)은 선택적인 펩티드 링커를 통해 서로 융합된다. 1차 세포내 신호전달 도메인과 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인은 임의의 적합한 순서로 배열될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인은 막관통 도메인과 1차 세포내 신호전달 도메인(예컨대, CD3ζ의 세포질 신호전달 도메인) 사이

에 위치한다. 다수의 공동자극성 신호전달 도메인은 상가적 또는 상승적 자극 효과를 제공할 수 있다.

[0691] 숙주 세포(예를 들어, 면역 세포)에서 공동자극성 신호전달 도메인의 활성화는 세포가 사이토카인의 생성 및 분비, 식세포작용성 특성, 증식, 분화, 생존, 및/또는 세포독성을 증가 또는 감소시키도록 유도할 수 있다. 임의의 공동자극성 분자의 공동자극성 신호전달 도메인은 본 명세서에 기재된 CAR에 사용하기에 적합할 수 있다. 공동자극성 신호전달 도메인의 유형(들)은 이펙터 분자가 발현되는 면역 이펙터 세포(예를 들어, T 세포, NK 세포, 대식세포, 호중구, 또는 호산구)의 유형, 및 원하는 면역 이펙터 기능(예를 들어, ADCC 효과)과 같은 인자에 기초하여 선택된다. CAR에 사용하기 위한 공동자극성 신호전달 도메인의 예는, 제한 없이, 하기를 포함하는 공동자극성 단백질들의 세포질 신호전달 도메인일 수 있다: B7/CD28 패밀리의 구성원(예를 들어, B7-1/CD80, B7-2/CD86, B7-H1/PD-L1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H6, B7-H7, BTLA/CD272, CD28, CTLA-4, Gi24/VISTA/B7-H5, ICOS/CD278, PD-1, PD-L2/B7-DC, 및 PDCD6); TNF 슈퍼패밀리의 구성원(예를 들어, 4-1BB/TNFSF9/CD137, 4-1BB 리간드/TNFSF9, BAFF/BLyS/TNFSF13B, BAFF R/TNFRSF13C, CD27/TNFRSF7, CD27 리간드/TNFSF7, CD30/TNFRSF8, CD30 리간드/TNFSF8, CD40/TNFRSF5, CD40/TNFSF5, CD40 리간드/TNFSF5, DR3/TNFRSF25, GITR/TNFRSF18, GITR 리간드/TNFSF18, HVEM/TNFRSF14, LIGHT/TNFSF14, 림프독소-알파/TNF-베타, OX40/TNFRSF4, OX40 리간드/TNFSF4, RELT/TNFRSF19L, TACI/TNFRSF13B, TL1A/TNFSF15, TNF-알파, 및 TNF RII/TNFRSF1B); SLAM 패밀리의 구성원(예를 들어, 2B4/CD244/SLAMF4, BLAME/SLAMF8, CD2, CD2F-10/SLAMF9, CD48/SLAMF2, CD58/LFA-3, CD84/SLAMF5, CD229/SLAMF3, CRACC/SLAMF7, NTB-A/SLAMF6, 및 SLAM/CD150); 및 임의의 다른 공동자극성 분자, 예컨대 CD2, CD7, CD53, CD82/Kai-1, CD90/Thy1, CD96, CD160, Claudin18.20, CD300a/LMIR1, HLA 클래스 I, HLA-DR, 이카로스(Ikaros), 인테그린 알파 4/CD49d, 인테그린 알파 4 베타 1, 인테그린 알파 4 베타 7/LPAM-1, LAG-3, TCL1A, TCL1B, CRTAM, DAP12, Dectin-1/CLEC7A, DPPIV/CD26, EphB6, TIM-1/KIM-1/HAVCR, TIM-4, TSLP, TSLP R, 림프구 기능 관련 항원-1(LFA-1), 및 NKG2C. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 공동자극성 신호전달 도메인은 CD27, CD28, CD137, OX40, CD30, CD40, CD3, 림프구 기능-관련 항원-1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 및 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드(예컨대, CD83 및 MD-2)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시 형태에서, 본 발명의 CAR 내의 세포내 신호전달 도메인은 CD137로부터 유래되는 공동자극성 신호전달 도메인(즉, 4-1BB)을 포함한다. 또한 본 발명의 범주 내에는, 공동자극성 신호전달 도메인이 면역 세포의 면역 반응을 조절할 수 있도록 하는 본 명세서에 기재된 임의의 공동자극성 신호전달 도메인의 변이체가 있다. 일부 실시 형태에서, 공동자극성 신호전달 도메인은 야생형 대응물과 대비하여 최대 10개(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 또는 8개)의 아미노산 잔기 변이를 포함한다. 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 그러한 공동자극성 신호전달 도메인은 변이체로 지칭될 수 있다. 공동자극성 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 그러한 돌연변이를 포함하지 않는 공동자극성 신호전달 도메인에 비해 신호 전달의 증가 및 면역 반응의 향상된 자극을 가져올 수 있다. 공동자극성 신호전달 도메인의 아미노산 잔기의 돌연변이는 그러한 돌연변이를 포함하지 않는 공동자극성 신호전달 도메인에 비해 신호 전달의 감소 및 면역 반응의 감소된 자극을 가져올 수 있다.

[0692] 본 발명의 CAR은 세포외 항원-결합 도메인과 막관통 도메인 사이에 위치된 힌지 도메인을 포함할 수 있다. 힌지 도메인은, 단백질의 2개의 도메인 사이에서 일반적으로 발견되고 단백질의 가요성 및 도메인들 중 하나 또는 둘 모두의 서로에 대한 이동을 가능하게 할 수 있는 아미노산 세그먼트이다. 이펙터 분자의 막관통 도메인에 대한 세포외 항원-결합 도메인의 그러한 가요성 및 이동을 제공하는 임의의 아미노산 서열이 사용될 수 있다. 힌지 도메인은 약 10 내지 100개의 아미노산, 예를 들어 약 15 내지 75개의 아미노산, 20 내지 50개의 아미노산, 또는 30 내지 60개의 아미노산 중 어느 하나를 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 적어도 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 또는 75개 중 어느 하나의 아미노산 길이일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 자연 발생 단백질의 힌지 도메인이다. 힌지 도메인을 포함하는 당업계에 알려진 임의의 단백질의 힌지 도메인이 본 명세서에 기재된 키메라 수용체에 사용하기에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 자연 발생 단백질의 힌지 도메인의 적어도 일부분이고 키메라 수용체에 가요성을 부여한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 CD8α로부터 유래된다. 항체, 예컨대 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체의 힌지 도메인이 또한 본 명세서에 기재된 pH-의존적 키메라 수용체 시스템에 사용하기에 적합하다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 불변 도메인 CH1과 CH2를 연결하는 힌지 도메인이다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 것이고, 항체의 힌지 도메인 및 항체의 하나 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 도메인은 항체의 힌지 도메인 및 항체의 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG, IgA, IgM, IgE, 또는 IgD 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG 항체이다. 일부 실시 형태에서, 항체는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체이다. 일부 실시 형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH2 및 CH3 불변 영역을 포함

한다. 일부 실시 형태에서, 힌지 영역은 IgG1 항체의 힌지 영역 및 CH3 불변 영역을 포함한다. 비자연 발생 펩티드가 또한 본 명세서에 기재된 키메라 수용체에 대한 힌지 도메인으로서 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, Fc 수용체의 세포외 리간드-결합 도메인의 C-말단과 막관통 도메인의 N-말단 사이의 힌지 도메인은 펩티드 링커, 예컨대 $(G_xS)_n$ 링커이며, 여기서 x 및 n은 독립적으로 3 내지 12의 정수일 수 있으며, 이에는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 또는 그 이상의 정수가 포함된다.

[0693] 본 발명의 CAR은 폴리펩티드의 N-말단에 신호 펩티드(신호 서열로도 알려져 있음)를 포함할 수 있다. 일반적으로, 신호 펩티드는 폴리펩티드를 세포 내의 원하는 부위에 표적화하는 펩티드 서열이다. 일부 실시 형태에서, 신호 펩티드는 이펙터 분자를 세포의 분비 경로에 표적화하고, 지질 이중층 내로의 이펙터 분자의 통합 및 고착을 가능하게 할 것이다. 본 명세서에 기재된 CAR에 사용하기에 적합한 자연 발생 단백질의 신호 서열 또는 합성 비자연 발생 신호 서열을 포함하는 신호 펩티드는 당업자에게 명백할 것이다. 일부 실시 형태에서, 신호 펩티드는 CD8α, GM-CSF 수용체 α, 및 IgG1 중쇄로 이루어진 군으로부터 선택되는 분자로부터 유래된다. 일부 실시 형태에서, 신호 펩티드는 CD8α로부터 유래된다.

[0694] 또 다른 태양에서, 본 명세서에 기재된 CAR 중 어느 하나를 포함하는 숙주 세포(예컨대, 면역 이펙터 세포) 및 이의 용도, 예를 들어 질병 또는 장애를 치료하기 위한 용도가 본 명세서에 제공된다.

[0695] **5.8.진단 검정 및 방법**

[0696] 항원에 면역특이적으로 결합하는 표지된 결합 분자, 예컨대 표지된 항체 및 이의 유도체 및 유사체는 질병을 검출, 진단, 또는 모니터링하기 위한 진단 목적으로 사용될 수 있다.

[0697] 본 명세서에 제공된 항체가 본 명세서에 기재된 바와 같은 또는 당업자에게 알려진 바와 같은 고전적 면역조직학적 방법을 사용하여 생물학적 샘플에서 항원 수준을 검정하는 데 사용될 수 있다(예를 들어, 문헌[Jalkanen *et al.*, 1985, J. Cell. Biol. 101:976-985]; 및 문헌[Jalkanen *et al.*, 1987, J. Cell. Biol. 105:3087-3096] 참조). 단백질 유전자 발현을 검출하는 데 유용한 다른 항체-기반 방법은 면역검정, 예컨대 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA) 및 방사면역검정(RIA)을 포함한다. 적합한 항체 검정 표지는 당업계에 알려져 있으며, 효소 표지, 예컨대 글루코스 옥시다제; 방사성 동위원소, 예컨대 요오드(125I, 121I), 탄소(14C), 황(35S), 삼중수소(3H), 인듐(121In), 및 테크네튬(99Tc); 발광 표지, 예컨대 루미놀; 및 형광 표지, 예컨대 플루오레세인 및 로다민, 및 비오틴을 포함한다.

[0698] 사용되는 이미징 시스템 및 대상체의 크기는 진단적 이미지를 생성하는 데 필요한 이미징 모이어티의 양을 결정할 것임이 당업계에 이해되어 있을 것이다. 인간 대상체에 대한 방사성 동위원소 모이어티의 경우, 주사되는 방사능의 양은 통상적으로 약 5 내지 20 밀리퀴리 범위의 99Tc일 것이다. 이어서, 표지된 항체는 특정 단백질을 함유하는 세포의 위치에 축적될 것이다. 생체내 종양 이미징은 문헌[S.W. Burchiel *et al.*, "Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments." (Chapter 13 in Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W. Burchiel and B. A. Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)]에 기재되어 있다.

[0699] 사용된 표지의 유형 및 투여 방식을 포함한 몇몇 변수에 따라, 표지된 항체가 대상체에서 부위에 농축될 수 있게 하고 결합되지 않은 표지된 항체가 백그라운드 수준으로 제거될 수 있게 하기 위한 투여 후의 시간 간격은 6 내지 48시간 또는 6 내지 24시간 또는 6 내지 12시간이다. 다른 실시 형태에서, 투여 후의 시간 간격은 5 내지 20일 또는 5 내지 10일이다.

[0700] 표지된 분자의 존재는 생체내 스캐닝을 위한 것으로 당업계에 알려진 방법을 사용하여 대상체에서 검출될 수 있다. 이들 방법은 사용되는 표지의 유형에 따라 좌우된다. 숙련된 기술자는 특정 표지를 검출하기에 적절한 방법을 결정할 수 있을 것이다. 본 명세서에 제공된 진단 방법에 사용될 수 있는 방법 및 장치는 컴퓨터 단층촬영(CT), 전신 스캔, 예컨대 양전자 방출 단층촬영(PET), 자기 공명 영상(MRI), 및 초음파 검사(sonography)를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.

[0701] 구체적인 실시 형태에서, 분자는 방사성 동위원소로 표지되고, 방사선 반응성 수술 기구를 사용하여 환자에서 검출된다(Thurston *et al.*, 미국 특허 제5,441,050호). 다른 실시 형태에서, 분자는 형광 화합물로 표지되고, 형광 반응성 스캐닝 기기를 사용하여 환자에서 검출된다. 다른 실시 형태에서, 분자는 양전자 방출 금속으로 표지되고, 양전자 방출 단층촬영을 사용하여 환자에서 검출된다. 또 다른 실시 형태에서, 분자는 상자성 표지로 표지되고, 자기 공명 영상(MRI)을 사용하여 환자에서 검출된다.

[0702] 5.9.키트

[0703] 적합한 패키징 재료 내에 패키징된 본 명세서에 제공된 결합 분자(예를 들어, 항체), 또는 이의 조성물(예를 들어, 약제학적 조성물)을 포함하는 키트가 본 명세서에 또한 제공된다. 키트는 선택적으로 라벨 또는 패키징 삽입물(packaging insert)을 포함하며, 이에는 성분들에 대한 설명 또는 그 안의 성분들의 시험관내, 생체내, 또는 생체외에서의 사용을 위한 설명서가 포함된다.

[0704] 용어 "패키징 재료"는 키트의 성분들을 하우징하는 물리적 구조물을 지칭한다. 패키징 재료는 성분들을 멸균 상태로 유지할 수 있으며, 그러한 목적을 위해 일반적으로 사용되는 재료(예를 들어, 종이, 파형(corrugated) 섬유, 유리, 플라스틱, 포일, 앰풀, 바이알, 튜브 등)로 제조될 수 있다.

[0705] 본 명세서에 제공된 키트는 라벨 또는 삽입물을 포함할 수 있다. 라벨 또는 삽입물은 성분, 키트 또는 패킹 재료(예를 들어, 상자)와는 별개의 또는 이에 부착된, 또는, 예를 들어 키트 성분이 담긴 앰풀, 튜브, 또는 바이알에 부착된 "인쇄물", 예를 들어 종이 또는 판지를 포함한다. 라벨 또는 삽입물은 컴퓨터 판독가능 매체, 예컨대 디스크(예를 들어, 하드 디스크, 카드, 메모리 디스크), 광학 디스크, 예컨대 CD- 또는 DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, 자기 테이프, 또는 전기적 저장 매체, 예컨대 RAM 및 ROM 또는 이들의 하이브리드, 예컨대 자기/광학 저장 매체, FLASH 매체, 또는 메모리 유형 카드를 추가로 포함할 수 있다. 라벨 또는 삽입물은 제조자 정보, 로트 번호, 제조자 소재지, 및 날짜를 확인시켜 주는 정보를 포함할 수 있다.

[0706] 본 명세서에 제공된 키트는 다른 성분들을 추가로 포함할 수 있다. 키트의 각각의 성분은 개별 용기 내에 봉입될 수 있고, 다양한 용기 모두가 단일 패키지 내에 있을 수 있다. 키트는 또한 저온 저장을 위해 설계될 수 있다. 키트는 추가로 본 명세서에 제공된 항체, 또는 본 명세서에 제공된 항체를 인코딩하는 핵산을 함유하는 세포를 수용하도록 설계될 수 있다. 키트 내의 세포는 즉시 사용가능할 때까지 적절한 저장 조건 하에서 유지될 수 있다.

[0707] 항원에 면역특이적으로 결합하는 결합 분자(예컨대, 항체)의 패널이 본 명세서에 또한 제공된다. 구체적인 실시 형태에서, 항원에 대한 상이한 회합 속도 상수, 상이한 해리 속도 상수, 상이한 친화도, 및/또는 항원에 대한 상이한 특이성을 갖는 항체들의 패널이 본 명세서에 제공된다. 소정 실시 형태에서, 약 10, 바람직하게는 약 25, 약 50, 약 75, 약 100, 약 125, 약 150, 약 175, 약 200, 약 250, 약 300, 약 350, 약 400, 약 450, 약 500, 약 550, 약 600, 약 650, 약 700, 약 750, 약 800, 약 850, 약 900, 약 950, 또는 약 1000개 또는 그 이상의 항체의 패널이 본 명세서에 제공된다. 예를 들어, 96웰 또는 384웰 플레이트, 예컨대 ELISA와 같은 검정을 위한 것에 항체의 패널이 사용될 수 있다.

[0708] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 모든 기술 과학 용어는 당업자가 통상적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에 기재된 것들과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 적합한 방법 및 재료가 본 명세서에 기재되어 있다.

[0709] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 수치 값이 종종 본 명세서 전체에 걸쳐 범위 형식으로 제시된다. 범위 형식의 사용은 단지 편의상 및 간결성을 위한 것이며, 문맥상 명백히 달리 나타내지 않는 한 본 발명의 범주에 대한 완강한 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 따라서, 범위의 사용은, 문맥상 명백히 달리 나타내지 않는 한, 모든 가능한 하위범위, 그 범위 내의 모든 개별 수치 값, 및 모든 수치 값 또는 수치 범위 - 이에는 그러한 범위 내의 정수, 및 범위 내의 값 또는 정수의 분수가 포함됨 - 를 명시적으로 포함한다. 이러한 구성은 본 특허 문헌 전체에 걸쳐 범위의 폭에 관계없이 그리고 모든 문맥상 적용된다. 따라서, 예를 들어, 90 내지 100%의 범위에 대한 언급은 91 내지 99%, 92 내지 98%, 93 내지 95%, 91 내지 98%, 91 내지 97%, 91 내지 96%, 91 내지 95%, 91 내지 94%, 91 내지 93% 등을 포함한다. 90 내지 100%의 범위에 대한 언급은 또한 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 97% 등뿐만 아니라, 91.1%, 91.2%, 91.3%, 91.4%, 91.5% 등, 92.1%, 92.2%, 92.3%, 92.4%, 92.5% 등, 및 기타 등등을 포함한다.

[0710] 또한, 1 내지 3, 3 내지 5, 5 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 30, 30 내지 40, 40 내지 50, 50 내지 60, 60 내지 70, 70 내지 80, 80 내지 90, 90 내지 100, 100 내지 110, 110 내지 120, 120 내지 130, 130 내지 140, 140 내지 150, 150 내지 160, 160 내지 170, 170 내지 180, 180 내지 190, 190 내지 200, 200 내지 225, 225 내지 250의 범위에 대한 언급은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 등을 포함한다. 추가의 예에서, 25 내지 250, 250 내지 500, 500 내지 1,000, 1,000 내지 2,500, 2,500 내지 5,000, 5,000 내지 25,000, 25,000 내지 50,000의 범위에 대한 언급은 그러한 값들 내의 또는 이들을 포함하는 임의의 수치 값 또는 범위, 예를 들어 25, 26, 27, 28, 29…250, 251, 252, 253, 254…500, 501, 502, 503, 504… 등

을 포함한다.

[0711] 본 명세서에 또한 사용되는 바와 같이, 일련의 범위가 본 명세서 전체에 걸쳐 개시된다. 일련의 범위의 사용은 더 높은 범위와 더 낮은 범위의 조합을 포함하여 다른 범위를 제공한다. 이러한 구성은 본 특허 문헌 전체에 걸쳐 범위의 폭에 관계없이 그리고 모든 문맥상 적용된다. 따라서, 예를 들어, 5 내지 10, 10 내지 20, 20 내지 30, 30 내지 40, 40 내지 50, 50 내지 75, 75 내지 100, 100 내지 150과 같은 일련의 범위에 대한 언급은 5 내지 20, 5 내지 30, 5 내지 40, 5 내지 50, 5 내지 75, 5 내지 100, 5 내지 150, 및 10 내지 30, 10 내지 40, 10 내지 50, 10 내지 75, 10 내지 100, 10 내지 150, 및 20 내지 40, 20 내지 50, 20 내지 75, 20 내지 100, 20 내지 150 등과 같은 범위를 포함한다.

[0712] 간결성을 위해, 소정 약어가 본 명세서에 사용된다. 한 예는 아미노산 잔기를 나타내는 1-문자 약어이다. 아미노산 및 이의 상응하는 3-문자 및 1-문자 약어는 하기와 같다:

[0713] 알라닌 Ala (A)

[0714] 아르기닌 Arg (R)

[0715] 아스파라긴 Asn (N)

[0716] 아스파르트산 Asp (D)

[0717] 시스테인 Cys (C)

[0718] 글루탐산 Glu (E)

[0719] 글루타민 Gln (Q)

[0720] 글리신 Gly (G)

[0721] 히스티딘 His (H)

[0722] 아이소류신 Ile (I)

[0723] 류신 Leu (L)

[0724] 라이신 Lys (K)

[0725] 메티오닌 Met (M)

[0726] 페닐알라닌 Phe (F)

[0727] 프롤린 Pro (P)

[0728] 세린 Ser (S)

[0729] 트레오닌 Thr (T)

[0730] 트립토판 Trp (W)

[0731] 티로신 Tyr (Y)

[0732] 발린 Val (V)

[0733] 본 발명은 다수의 실시 형태를 기재하기 위해 긍정 언어를 사용하여 일반적으로 본 명세서에 개시된다. 본 발명은 또한 물질 또는 재료, 방법 단계 및 조건, 프로토콜, 절차, 검정, 또는 분석과 같은 특정 주제가 전체적으로 또는 부분적으로 배제되는 실시 형태를 구체적으로 포함한다. 따라서, 본 발명이 포함하지 않는 것의 관점에서 본 발명이 본 명세서에 일반적으로 표현되지 않더라도, 그럼에도 불구하고 본 발명에 명시적으로 포함되지 않은 태양들이 본 명세서에 개시된다.

[0734] **6.실시 형태**

[0735] 본 발명은 하기의 비제한적인 실시 형태를 포함한다:

[0736] 실시 형태 1. 활성화된 간 성상 세포(HSC) 상에서 발현되는 하나 이상의 항원(들)에 결합하는 하나 이상의 결합 도메인(들), 및 활성화된 HSC에 대한 항체 이펙터 기능을 향상시킬 수 있는 기능성 도메인을 포함하는 결합 분자로서,

[0737] 선택적으로, 상기 항체 이펙터 기능은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)인, 결합 분자.

[0738] 실시 형태 2. 실시 형태 1에 있어서, 상기 기능성 도메인은

[0739] (i) ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역; 또는

[0740] (ii) 면역 세포를 활성화시키는 도메인 - 여기서, 선택적으로 상기 면역 세포는 NK 세포임 - 인, 결합 분자.

[0741] 실시 형태 3. 실시 형태 2에 있어서, 상기 기능성 도메인은 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역이고, 선택적으로 상기 Fc 영역의 하나 이상의 돌연변이(들)는 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재하는, 결합 분자.

[0742] 실시 형태 4. 실시 형태 3에 있어서, 상기 Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함하는, 결합 분자.

[0743] 실시 형태 5. 실시 형태 2에 있어서, 상기 기능성 도메인은 상기 면역 세포를 활성화시키는 도메인이고, 상기 기능성 도메인은 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 또는 면역 세포 억제성 신호전달을 억제하는, 결합 분자.

[0744] 실시 형태 6. 실시 형태 5에 있어서, 상기 기능성 도메인은 면역 세포 상의 수용체에 결합하고/하거나 이를 조절하고, 선택적으로 상기 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a로 이루어진 군으로부터 선택되는, 결합 분자.

[0745] 실시 형태 7. 실시 형태 5 또는 실시 형태 6에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKG2D에 결합하는, 결합 분자.

[0746] 실시 형태 8. 실시 형태 7에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKG2D 리간드로부터 유래되는, 결합 분자.

[0747] 실시 형태 9. 실시 형태 8에 있어서, 상기 기능성 도메인은 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2의 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체이고, 선택적으로 상기 기능성 도메인은 서열 번호 90 내지 93 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하는, 결합 분자.

[0748] 실시 형태 10. 실시 형태 5 또는 실시 형태 6에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는, 결합 분자.

[0749] 실시 형태 11. 실시 형태 10에 있어서, 상기 기능성 도메인은 NKp46에 결합하는 항체를 포함하는, 결합 분자.

[0750] 실시 형태 12. 실시 형태 11에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 87에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 88에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0751] 실시 형태 13. 실시 형태 12에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 61의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 62의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 63의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 65의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0752] 실시 형태 14. 실시 형태 12 또는 실시 형태 13에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 87의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 88의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0753] 실시 형태 15. 실시 형태 5에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TGFb에 결합하는, 결합 분자.

[0754] 실시 형태 16. 실시 형태 15에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TGFb 수용체 II 세포외 도메인(TRII) 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 상기 기능성 도메인은 서열 번호 94의 아미노산 서열 또는 이의 단편

을 포함하는, 결합 분자.

[0755] 실시 형태 17. 실시 형태 5 또는 실시 형태 6에 있어서, 상기 기능성 도메인은 TIGIT에 결합하는, 결합 분자.

[0756] 실시 형태 18. 실시 형태 17에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 265에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 266에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0757] 실시 형태 19. 실시 형태 18에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 267의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 268의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 269의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 270의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 271의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 272의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0758] 실시 형태 20. 실시 형태 18 또는 실시 형태 19에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 265의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 266의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0759] 실시 형태 21. 실시 형태 5 또는 실시 형태 6에 있어서, 상기 기능성 도메인은 PVRIG에 결합하는, 결합 분자.

[0760] 실시 형태 22. 실시 형태 21에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 273에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 274에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0761] 실시 형태 23. 실시 형태 22에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 275의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 276의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 277의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 278의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 279의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 280의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0762] 실시 형태 24. 실시 형태 21 또는 실시 형태 22에 있어서, 상기 항체는 서열 번호 273의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 274의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0763] 실시 형태 25. 실시 형태 5 내지 실시 형태 24 중 어느 하나에 있어서, 상기 결합 분자는 ADCC를 향상시키는 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역을 추가로 포함하는, 결합 분자.

[0764] 실시 형태 26. 실시 형태 25에 있어서, 상기 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함하는 Fc 영역은 EU 넘버링에 따라 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 및/또는 447의 위치에 존재하는, 결합 분자.

[0765] 실시 형태 27. 실시 형태 26에 있어서, 상기 Fc 영역은 S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 포함하는, 결합 분자.

[0766] 실시 형태 28. 실시 형태 1 내지 실시 형태 27 중 어느 하나에 있어서, 상기 HSC 상에서 발현되는 항원(들)은 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2로 이루어진 군으로부터 선택되는, 결합 분자.

[0767] 실시 형태 29. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 PDGFRb인, 결합 분자.

[0768] 실시 형태 30. 실시 형태 29에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 67에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 68에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0769] 실시 형태 31. 실시 형태 30에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 2의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 3의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 4의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 6의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0770] 실시 형태 32. 실시 형태 30 또는 실시 형태 31에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 67의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0771] 실시 형태 33. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 SIRPA인, 결합 분자.

[0772] 실시 형태 34. 실시 형태 33에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0773] (i) 서열 번호 69에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 70에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3;

[0774] (ii) 서열 번호 71에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 72에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

[0775] (iii) 서열 번호 73에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 74에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0776] 실시 형태 35. 실시 형태 34에 있어서,

[0777] (i) 상기 HCDR1은 서열 번호 7의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 9의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 10의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 11의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 12의 아미노산 서열을 포함하거나;

[0778] (ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 13의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 15의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 16의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 17의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0779] (iii) 상기 HCDR1은 서열 번호 19의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 20의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 21의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 23의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 24의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0780] 실시 형태 36. 실시 형태 34 또는 실시 형태 35에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0781] (i) 서열 번호 69의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 70의 아미노산 서열을 포함하는 VL;

[0782] (ii) 서열 번호 71의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0783] (iii) 서열 번호 73의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 74의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0784] 실시 형태 37. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 FAPα인, 결합 분자.

[0785] 실시 형태 38. 실시 형태 37에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0786] (i) 서열 번호 75에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 76에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

[0787] (ii) 서열 번호 77에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 78에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0788] 실시 형태 39. 실시 형태 38에 있어서,

[0789] (i) 상기 HCDR1은 서열 번호 25의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 27의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 29의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 30의 아미노산

서열을 포함하거나; 또는

[0790] (ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 31의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 32의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 33의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 35의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0791] 실시 형태 40. 실시 형태 38 또는 실시 형태 39에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0792] (i) 서열 번호 75의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0793] (ii) 서열 번호 77의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 78의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0794] 실시 형태 41. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 PD-L1인, 결합 분자.

[0795] 실시 형태 42. 실시 형태 41에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 79에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 80에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0796] 실시 형태 43. 실시 형태 42에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 37의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 39의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 41의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0797] 실시 형태 44. 실시 형태 42 또는 실시 형태 43에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 79의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 80의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0798] 실시 형태 45. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 uPAR인, 결합 분자.

[0799] 실시 형태 46. 실시 형태 45에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 81에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 82에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0800] 실시 형태 47. 실시 형태 46에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 43의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 45의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 47의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 48의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0801] 실시 형태 48. 실시 형태 46 또는 실시 형태 47에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 81의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 82의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0802] 실시 형태 49. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 IGF-1R인, 결합 분자.

[0803] 실시 형태 50. 실시 형태 49에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0804] (i) 서열 번호 83에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 84에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

[0805] (ii) 서열 번호 85에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 86에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0806] 실시 형태 51. 실시 형태 50에 있어서,

[0807] (i) 상기 HCDR1은 서열 번호 49의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 50의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 51의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 52의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 53의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 54의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0808] (ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 55의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 56의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 57의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 58의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 59의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 60의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0809] 실시 형태 52. 실시 형태 50 또는 실시 형태 51에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0810] (i) 서열 번호 83의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 84의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0811] (ii) 서열 번호 85의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 86의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0812] 실시 형태 53. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 NKG2D 리간드이고, 선택적으로 상기 NKG2D 리간드는 MICA, MICB, ULBP1, 또는 ULBP2인, 결합 분자.

[0813] 실시 형태 54. 실시 형태 53에 있어서, 상기 결합 도메인은 NKG2D 세포외 도메인 또는 이의 단편 또는 변이체를 포함하고, 선택적으로 상기 결합 도메인은 서열 번호 89의 아미노산 서열 또는 이의 단편을 포함하는, 결합 분자.

[0814] 실시 형태 55. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 ANTXR1인, 결합 분자.

[0815] 실시 형태 56. 실시 형태 55에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0816] (i) 서열 번호 225에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 226에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

[0817] (ii) 서열 번호 233에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 234에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0818] 실시 형태 57. 실시 형태 56에 있어서,

[0819] (i) 상기 HCDR1은 서열 번호 227의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 228의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 229의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 230의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 231의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0820] (ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 236의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 237의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0821] 실시 형태 58. 실시 형태 56 또는 실시 형태 57에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0822] (i) 서열 번호 225의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 226의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0823] (ii) 서열 번호 233의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 232의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0824] 실시 형태 59. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 CD248인, 결합 분자.

[0825] 실시 형태 60. 실시 형태 59에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0826] (i) 서열 번호 241에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 242에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는

[0827] (ii) 서열 번호 249에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 250에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0828] 실시 형태 61. 실시 형태 60에 있어서,

[0829] (i) 상기 HCDR1은 서열 번호 243의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 244의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 245의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 246의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 247의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 248의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

[0830] (ii) 상기 HCDR1은 서열 번호 251의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 252의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 253의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 254의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 255의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 256의 아

미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0831] 실시 형태 62. 실시 형태 60 또는 실시 형태 61에 있어서, 상기 결합 도메인은

[0832] (i) 서열 번호 241의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 242의 아미노산 서열을 포함하는 VL; 또는

[0833] (ii) 서열 번호 249의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 250의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0834] 실시 형태 63. 실시 형태 1 내지 실시 형태 28 중 어느 하나에 있어서, 상기 항원은 GPC3인, 결합 분자.

[0835] 실시 형태 64. 실시 형태 63에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 257에 제시된 바와 같은 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3, 및 서열 번호 258에 제시된 바와 같은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는, 결합 분자.

[0836] 실시 형태 65. 실시 형태 64에 있어서, 상기 HCDR1은 서열 번호 259의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR2는 서열 번호 260의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 HCDR3은 서열 번호 261의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR1은 서열 번호 262의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR2는 서열 번호 263의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCDR3은 서열 번호 264의 아미노산 서열을 포함하는, 결합 분자.

[0837] 실시 형태 66. 실시 형태 64 또는 실시 형태 65에 있어서, 상기 결합 도메인은 서열 번호 257의 아미노산 서열을 포함하는 VH, 및 서열 번호 258의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는, 결합 분자.

[0838] 실시 형태 67. 실시 형태 1 내지 실시 형태 66 중 어느 하나에 있어서, 상기 결합 분자는 IgG 항체, 또는 상기 IgG 항체를 포함하는 융합 단백질인, 결합 분자.

[0839] 실시 형태 68. 실시 형태 67에 있어서, 상기 항체는 인간화 항체인, 결합 분자.

[0840] 실시 형태 69. 실시 형태 1 내지 실시 형태 68 중 어느 하나의 결합 분자 또는 이의 단편을 인코딩하는 핵산 분자.

[0841] 실시 형태 70. 실시 형태 69의 핵산 분자를 포함하는 벡터.

[0842] 실시 형태 71. 실시 형태 70의 벡터로 형질전환된 숙주 세포.

[0843] 실시 형태 72. 치료적 유효량의 실시 형태 1 내지 실시 형태 68 중 어느 하나의 결합 분자, 실시 형태 69의 핵산 분자, 또는 실시 형태 70의 벡터, 및 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물.

[0844] 실시 형태 73. 대상체에서 질병 또는 장애를 치료하는 방법으로서, 실시 형태 72의 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0845] 실시 형태 74. 실시 형태 73에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 활성화된 HSC와 관련된, 방법.

[0846] 실시 형태 75. 실시 형태 74에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 간 섬유증인, 방법.

[0847] 실시 형태 76. 대상체에서 활성화된 HSC를 고갈시키는 방법으로서,

[0848] 실시 형태 72의 조성물을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, 방법.

[0849] 실시 형태 77. 실시 형태 76에 있어서, 상기 대상체는 활성화된 HSC와 관련된 질병 또는 장애를 갖는, 방법.

[0850] 실시 형태 78. 실시 형태 77에 있어서, 상기 질병 또는 장애는 간 섬유증인, 방법.

[0851] 본 발명의 다수의 실시 형태가 기재되어 있다. 그럼에도 불구하고, 본 발명의 사상 및 범주로부터 벗어남이 없이 다양한 변형들이 이루어질 수 있다는 것은 이해될 것이다. 따라서, 하기 실시예는 청구범위에 기재되거나 달리 본 개시내용에 기재된 본 발명의 범주를 예시하지만 이를 제한하고자 하지 않는다.

[0852] **7.실시예**

[0853] 이하는 본 연구에 사용된 다양한 방법 및 재료에 대한 설명이며, 본 발명을 어떻게 형성하고 사용하는지에 관한 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하도록 제시되며, 본 발명자들이 그들의 발명으로서 간주하는 것의 범주를 제한하고자 하지도 않고, 이들은 하기 실험이, 수행될 수 있는 모든 실험을 수행하였고 그러한 모든 실험임을 나타내고자 하지도 않는다. 현재형 시제로 쓰여진 예시적인 설명은 반드시 수행되지는 않았으며, 그보다는 그러한 설명을 수행하여 본 발명의 교시내용과 관련된 데이터 등을 생성할 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 사용된 수치(예를 들어, 양, 백분율 등)에 관한 정확도를 보장하기 위하여 노력하였지만, 약간의 실험적 오류

및 편차는 감안해야 한다.

[0854] **7.1.실시예 1: 활성화된 간 성상 세포(HSC)를 표적화하기 위한 작제물**

[0855] 활성화된 간 성상 세포(HSC)는 간 손상 시에 섬유생성을 매개하는 세포의 주요 유형이다. 활성화된 HSC를 표적화하는 치료적 접근법은 섬유증 형성을 늦추거나 예방하고 간 섬유증 또는 간경변증을 가진 환자에서 삶의 질을 개선하는 데 매우 필요하다. 그러나, 항체에 의한 활성화된 HSC의 고갈을 통한 성공적인 전략은 개발되지 않았다. 본 연구에서는, 활성화된 HSC 세포 상에서 발현되는 항원에 결합하는 항체를 생성하였으며, 이들은 간에서 이들 세포를 제거하기 위해 면역 시스템을 끌어오는 것으로 입증되었다. 간 손상 시에 활성화된 HSC의 수를 감소시킴으로써, 항체는 간 섬유증의 진행을 효율적으로 늦출 수 있었다.

[0856] 항체에 의해 인식될 수 있는 충분한 세포외 도메인을 갖는 표면 항원이 본 발명에 따라 표적화될 수 있었다. 본 명세서에 제공된 예시적인 비제한적인 표면 항원은 5HT1B, 5HT1F, 5HT2A, 5-HT2B, 5-HT7, A2a, A2b, a1b1 인테그린, a2bi 인테그린, a5b1 인테그린, a6b4 인테그린, a8b1 인테그린, avb1 인테그린, avb3 인테그린, ACVR2A, ACVR2B, AdipoR1, AdipoR2, ADRA1A, ADRA1B, ANTXR1, AT1, AT2, BAMBI, BMPR2, C5aR, CB1, CB2, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CD105, CD112, CD14, CD146, CD155, CD248, CD36, CD38, CD40, CD44, CD49e, CD62e, CD73, CD95, c-MET, CNTFR, CXCR3, CXCR4, DDR1, DDR2, EGFR, ETA, ETB, FAP, FGFR2, FN, gp130, GPC3, GPR91, ICAM-1, IGF-1R, IGF-2R, IL-10R2, IL-11RA, IL-17RA, IL-20R1, IL-20R2, IL-22R1, IL-6R, KCNE4, ITGA8, LRP, MICA, MICB, NCAM, NGFR, NPR-B, NPR3, OB-Ra, OB-Rb, OPRD1, P2X4, P2X7, P2Y6, p75NTR, PAFR, PAR1 PAR2 PAR4, PDGFRA, PDGFRB, PD-L1, PD-L2, Ptc, PTH-1R, RAGE, SIRPA, CD47, SYP, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR9, TNFR1, TRKB, TRKC, ULBP1, ULPB2, uPAR, VACM-1, VEGFR-1, 및 VEGFR-2를 포함한다.

[0857] HSC 세포 상의 다수의 예시적인 표면 항원을 본 실시예에서 연구하였다. 활성화된 HSC 세포 상에서 발현되는 것으로 알려진 항원(PDGFRb, FAPa, NKG2D 리간드, uPAR, IGF1R, CD248을 포함함)을 표적화하는 예시적인 항체(Fc 함유 결합 분자를 포함함)를 작제하고 시험하였다. 추가적으로, 3개의 신규한 HSC-발현 표면 단백질(ANTXR1, SIRPA 및 PD-L1)을 확인하고 연구하였다.

[0858] 항-FAPa 항체, 항-CD248 항체, 항-ANTXR1 항체 및 항-GPC3을 mIgG2a로서 조작하였다. 다른 시험 항체를 hIgG1로서 재조합적으로 조작하였다. NKG2D 세포외 도메인의 2개의 카피를 hIgG1 Fc에 융합함으로써 NKG2D-Fc 재조합 단백질을 조작하였다. 뮤린 항체로부터의 가변 영역 및 hIgG1로부터의 불변 영역을 갖는 키메라 항-SIRPA 항체를 조작하고 발현시켰다. 인간화 항-PD-L1 항체를 hIgG1 동종형으로서 발현시켰다. 이들 예시적인 작제물의 서열이 하기 표에 나타나 있다.

[0859] [표 1]

예시적인 항체의 VH, VL 및 CDR 서열

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-PDGFRb 항체(α-PDGFRb 1)	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYAINWVRQPPGKGLEWLGIIWTGGGTSYNSALKSRLTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYCARTGTRGYFFDYWGQGTLVTVSS(서열 번호 67)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCHASQNINVWLSWYQQKPGKAPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPEDIATYYCQQGQSFPFTFGGGTKVEIK(서열 번호 68)	NYAIN(서열 번호 1)	IIWTGGGTSYNSALKS(서열 번호 2)	TGTRGYFFDY(서열 번호 3)	HASQNINVWLS(서열 번호 4)	KASNLHT(서열 번호 5)	QQGQSFPFT(서열 번호 6)
예시적인 항-SIRPA 항체(α-SIRPA 1)	EVQLQQ SGAEL VKPGASVKLSCTTSGFNFKDMYIHWVKQRPQQGLEWIGRIDPENDDTKYDPKFQDKATITADTSSNTAYLQLSNLPSEDTAVYYCARGNYVHWGQGTLVTVSA(서열 번호 69)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVQYYGT SLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVESGVPARFSGSGSGTDFSLNIYPVEEDDIAMYFCQQSRRVWTFGGGTKLEIK(서열 번호 70)	DMYIH(서열 번호 7)	IDPENDDTKYDPKFQD(서열 번호 8)	GNYVH(서열 번호 9)	RASESVQYYGTSLMQ(서열 번호 10)	AASNVES(서열 번호 11)	QQSRRVWT(서열 번호 12)

[0860]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-SIRPA 항체(α-SIRPA 2)	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSCTGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQGLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQDKATLTADTASNTAYLQISSLTSEDTAVYYCARGNYVHWGQGTLVT VSA(서열 번호 71)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVQYYGT SLMQWYQQKPGQPPKLLIYAASNVGSGVPARFSGSGSG TDFSLNIHPVEEDDIAMYFCQQTRRVWTFGGGTKLEIK(서열 번호 72)	DMYLH(서열 번호 13)	IDPENDSTKYDPKFQD(서열 번호 14)	GNYVH(서열 번호 15)	RASESVQYYGTSLMQ(서열 번호 16)	AASNVGS(서열 번호 17)	QQTRRVWT(서열 번호 18)
예시적인 항-SIRPA 항체(α-SIRPA 3)	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSCTASGFNIKDSYMHWVKQRTEQGLEWIGRIDPEDGETKYAPKFQGKATITADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARRGFYWGQGTTLTVSS(서열 번호 73)	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLYWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAASYFCYQWSTHPYTFGGGTKLEIK(서열 번호 74)	DSYMH(서열 번호 19)	IDPEDGETKYAPKFQG(서열 번호 20)	RGFY(서열 번호 21)	SSSVSSSYLY(서열 번호 22)	STSNLAS(서열 번호 23)	YQWSTHPYT(서열 번호 24)

[0861]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-FAPα 항체(α-FAPα 1)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKTSRYTFTEYTIHWVRQAPGQRLEWIGGINPNNGIPNYNQKFKGRVTITVDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRRIAYGYDEGHAMDYWGQGTLVTVSS(서열 번호 75)	DIVMTQSPD SLAVSLGERATINCKSSQSLLYSRNQKNYLAWYQQKPGQPPKLLIFWASTRESGVPDRFSGSGFGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYFSYPLTFGQGTKVEIK(서열 번호 76)	EYTIH(서열 번호 25)	GINPNNGIPNYNQKFKG(서열 번호 26)	RRIAYGYDEGHAMDY(서열 번호 27)	KSSQSLLYSRNQKNYLA(서열 번호 28)	WASTRES(서열 번호 29)	QQYFSYPLT(서열 번호 30)
예시적인 항-FAPα 항체(α-FAPα 2)	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIIGSGASTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGWFGGFNYWGQGTLVTVSS(서열 번호 77)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLLINVGSRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTKVEIK(서열 번호 78)	SYAMS(서열 번호 31)	AIIGSGASTYYADSVK(서열 번호 32)	YCAKGWFG(서열 번호 33)	RASQSVTSSYL(서열 번호 34)	NVGSRRA(서열 번호 35)	CQQGIMLPP(서열 번호 36)

[0862]

[0863]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-PDL1 항체(α-PDL1 1)	EVQLVQ SGAEVKKP GATVKISCKVSGYT FTSYWMYWVRQAR GQRLEWIGRIDPNS GSTKYNEKFKNRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DYRKGLYAMDYW GQGTTVTVSS(서열 번호 79)	AIQLTQSPSSLSASV GDRVTITCKASQDV GTAVAWYLQKPGQ SPQLLIYWASTRHT GVPSRFSGSGSGTDF TFTIS SLEAED AATY YCQQYNSYPLTFGQ GTKVEIK(서열 번호 80)	GYTFTS YWMY(서열 번호 37)	RIDPNSG STKYNE KFKN(서열 번호 38)	DYRKGL YAMDY(서열 번호 39)	KASQDV GTAVA(서열 번호 40)	WASTRH T(서열 번호 41)	QQYNSY PLT(서열 번호 42)
예시적인 항-uPAR 항체(α-uPAR 1)	QVQLVESGGGVVQP GRSLRLSCAASGFTF SSYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWYDG SNKYYAD SVKGRFT ISRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCA RDQHIVVVTAILDY WGQGTLVTVSS(서열 번호 81)	DIVMTQSPDSLSVSL GERATINCKSSQSVL YGSNNRNSLAWYQ QKPGQPPKLLIYWA STRESGVPDRFSGSG SGTDFTLTISSLQAE DVAVYYCQQYYSIF PWTFGQGTKVEIK(서열 번호 82)	SYGMH(서열 번호 43)	VIWYDG SNKYYA DSVK(서열 번호 44)	DQHIVV VTAILDY(서열 번호 45)	KSSQSV LYGSNN RNSLA(서열 번호 46)	WASTRES(서열 번호 47)	QQYYSI FPWT(서열 번호 48)

[0864]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-IGF1R 항체(α-IGFIR 1)	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTF SIYRMQWVRQAPG KGLEWVSGISPSGG TTWYADS VKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR WSGGSGYAFDIWG QGTMVTVSS(서열 번호 83)	DIQMTQSPLSLSASV GDRVTITCQASRDIR NYLNWYQQKPGKA PKLLIYDASSLQTGV PSRFGGSGSGTDFSF TIGSLQPEDIATYYC QQFDSLPHTFGQGT KLEIK(서열 번호 84)	IYRMQ (서열 번호 49)	GISPSGG TTWYA DSVKG(서열 번호 50)	WSGGSG YAFDI (서열 번호 51)	QASRDI RNYLN(서열 번호 52)	DASSLQ T(서열 번호 53)	QQFDSL PHT(서열 번호 54)
예시적인 항-IGF1R 항체(α-IGFIR 2)	EVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTF SNYPMYWVRQAPG KGLEWVSRISSSGG RTVYAD S VKGRFTI SRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAR DRWSRSAAEYGLG GYWGQGTLVTVSS(서열 번호 85)	DIQMTQSPD SLAVS LGERATINCKSSQSV LYSSNNKNYLAWY QQKPGQPPKLLIYL ASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQQYYS TWTFGQGTKVEIK(서열 번호 86)	NYPMY (서열 번호 55)	RISSSGG RTVYAD SVKG(서열 번호 56)	DRWSRS AAEYGL GGY(서열 번호 57)	KSSQSV LYSSNN KNYLA(서열 번호 58)	LASTRE S(서열 번호 59)	QQYYST WT(서열 번호 60)

[0865]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-ANTXR1 항체(α-ANTXR1 1)	QVQLVQSGAEVKKP GTSVKVSCKVPGYT FSSYAISWVRQAPG QGLEWMGGIIPIFGT TNYAQKFQGRVTIT GEESTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCARDT DYMFDYWGQGTLV TVSS(서열 번호 225)	SSELTQDPVVSVAL GETVSITCQGDNLR DFYASWYQQKPGQ APLLVMYGKNRRPS GIPDRFSGSTSGNTL SLTITGAQAEDEAD YYCSSRDNSKHVVF GGGTKVTVL(서열 번호 226)	SYAIS(서열 번호 227)	GIIPIFGT TNYAQK FQG(서열 번호 228)	DTD YMF DY(서열 번호 229)	QGDNLRDF YAS(서열 번호 230)	GKNRRPS(서열 번호 231)	SSRDNS KHVV(서열 번호 232)
예시적인 항-ANTXR1 항체(α-ANTXR1 2)	QVQLKESPGALVKP TQTLTLTCTFSGFSL STSGGGVSWIRQPP GKALEWLAHIYSND DKSYSTSLKTRLTIS KDTSKNQVVLTMT NMDPVDTATYYCA RGGYFLDYWGQGT LVTVSS(서열 번호 233)	DIELTQPPSVSVAPG QTARISCSGDNIGGI YVHWYQQKPGQAP VLVIYADSKRPSGIP ERF SGSNSGNTATLT ISGTQAEDEADYYC QSYDITSLVFGGGT KLTVL(서열 번호 234)	TSGGGVS(서열 번호 235)	HIYSND DKSYST SLKT(서열 번호 236)	GGYFLDY(서열 번호 237)	SGDNIG GIYVH(서열 번호 238)	ADSKRP S(서열 번호 239)	QSYDITS LV(서열 번호 240)

[0866]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-CD248 항체(α-CD248 1)	QVQLQESGPGLVAP SQSLSITCTVSGFSLT GYGVNWVRQPPEK GLEWLGMIWVDGS TDYNSALKSRLNISK DKSKSQVFLKMNSL QTDDTARYYCARG GYGAMDYWGQGTS VTVSS(서열 번호 241)	DIQMNQSPSSLSASL GDTITITCHASQNIN VWLTWYQQKPGNI PKLLIYKASNLHTG VPSRFSGSGSGTGFT LTISSLQPEDIATYY CQQGQSYPWTFGG GTKLEIK(서열 번호 242)	GYGVN(서열 번호 243)	MIWVD GSTDYNSA LKS(서열 번호 244)	GGYGAMD Y(서열 번호 245)	HASQNI NVWLT(서열 번호 246)	KASNLH T(서열 번호 247)	QQGQSY PWT(서열 번호 248)
예시적인 항-CD248 항체(α-CD248 2)	QVQLQESGPGLVRP SQTLSLTCTASGYTF TDYVIHWVKQPPGR GLEWIGYINPYDDD TTYNQKFKGRVTM LVDTSSNTAYLRLSS VTAEDTAVYYCAR RGNSYDGYFDYSM DYWGSGTPVTVSS(서열 번호 249)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQNV GTAVAWLQQTPGK APKLLIYSASNRYTG VPSRFSGSGSGTDYT FTISSLQPEDIATYY CQQYTNYPMYTFG QGTKVQIK(서열 번호 250)	DYVIH(서열 번호 251)	YINPYD DDTTYN QKFKG(서열 번호 252)	RGNSYD GYFDYS MDY(서열 번호 253)	RASQNV GTAVA(서열 번호 254)	SASNRYT(서열 번호 255)	QQYTNY PMYT(서열 번호 256)

[0867]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-GPC3 항체(α-GPC3 1)	QVQLQQSGAELVRP GASVKLSCKASGYT FTDYEMHWVKQTP VHGLKWIGALDPKT GDTAYSQKFKGKAT LTADKS S STAYMEL RSLTSEDSAVYYCT RFYSYTYWGQGTL VTVSA(서열 번호 257)	DVVMTQTPLSLPVS LGDQASISCRSSQSL VHSNGNTYLHWYL QKPGQ SPKLLIYKVS NRFSGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAED LGVYFCSQNTHVPP TFGSGTKLEIK(서열 번호 258)	DYEMH(서열 번호 259)	ALDPKT GDTAYS QKFKG(서열 번호 260)	FYSYTY(서열 번호 261)	RSSQSL VHSNGNTY LH(서열 번호 262)	KVSNRF S(서열 번호 263)	SQNTHV PPT(서열 번호 264)
예시적인 항-TIGIT 항체(α-TIGIT 1)	EVQLQQ SGPGL VKP SQTLSLTCAISGDSV SSNSAAWNWIRQSP SRGLEWLGKTYYRF KWYSDYAVSVKGRI TINPDTSKNQFSLQL NSVTPEDTAVFYCT RESTTYDLLAGPFD YWGQGTLVTVSS(서열 번호 265)	DIVMTQSPD SLAVS LGERATINCKSSQTV LYSSNNKKYLAWY QQKPGQPPNLLIYW ASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQA EDVAVYYCQQYYS TPFTFGPGTKVEIK(서열 번호 266)	SNSAAWN(서열 번호 267)	KTYYRF KWYSDYAV SVKG(서열 번호 268)	ESTTYD LLAGPF DY(서열 번호 269)	KSSQTV LYSSNN KKYLA(서열 번호 270)	WASTRES(서열 번호 271)	QQYYST PFT(서열 번호 272)

[0868]

	VH	VL	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
예시적인 항-PVRIG 항체(α-PVRIG 1)	QVQLVQSGAEVKKP GASVKVSCKASGYT FTDYNINWVRQAPG QGLEWMGYIYPYIG GSGYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMEL SSLRSEDTAVYYCA REDKTARNAMDYW GQGTLVTVSS(서열 번호 273)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRVSENIY SNLAWYQQKPGKA PKLLIYEATNLAEG VPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYY CQHFWGTPYTFGQG TKLEIK(서열 번호 274)	DYNIN (서열 번호 275)	YIYPYIG GSGYAQ KFQG (서열 번호 276)	EDKTAR NAMDY (서열 번호 277)	RVSENI YSNLA (서열 번호 278)	EATNLA E(서열 번호 279)	QHFWGT PYT (서열 번호 280)
예시적인 항-NKp46 항체 (α-NKp46 1)	QVQLVQSGAEVKKP GSSVKVSCKASGYT FTDYVINWGRQAPG QGLEWIGEIYPGSGT NYYNEKFKAKATIT ADKSTSTAYMELSS LRSEDTAVYFCARR GRYGLYAMDYWG QGTTVTVSS(서열 번호 87)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKA PKLLIYYTSRLHSGV PSRFSGSGSGTDFTF TISSLQPEDIATYFC QQGNTRPWTFGGG TKVEIK(서열 번호 88)	DYVIN (서열 번호 61)	EIYPGSG TNYYNE KFKAKA (서열 번호 62)	RGRYGL YAMDY (서열 번호 63)	RASQDIS NYLN(서열 번호 64)	YTSRLH S(서열 번호 65)	QQGNTR PWT(서열 번호 66)

[0869] [표 2]

예시적인 세포외 도메인의 서열

	서열
NKG2D 세포외 도메인	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCPKNWICYKNNCYQFFDESKNWYESQ ASCMSQNASLLKVYSKEDQDLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGSWQWE DGSILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSFKGYIENCSTPNTYICMQRTV(서열 번호 89)
ULBP1 세포외 도메인	GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQWCEVQGLVDERPFLHYDCVNHKA KAFASLGKKVNVTKTWEEQTETLRDVVDFLKGQLLDIQVENLIPIEP LTLQARMSCEHEAHGHGRGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRKWTALHP GAKKMTEKWEKNRDVTMFFQKISLGDCKMWLEEFLMYWEQMLDPTKPPSLAP(서열 번호 90)
ULBP2 세포외 도메인	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEKTFLHYDCGNKTV TPVSPLGKKLNVTTAWKAQNPVLREVVDILTEQLRDIQLENYTPKEP LTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSFDGQIFLLFDSEKRMWTTVHPG ARKMKEKWENDKVVAMSFHYFSMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAM(서열 번호 91)
MICA 세포외 도메인	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAKPQ GQWAEDVLGNKTWDRETRDLTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGLHSLQ EIRVCEIHEDNSTRSSQHFYYDGELFLSQNLETKEWTMPQSSRAQTL AMNVRNFLKEDAMKTKTHYHAMHADCLQELRRYLKSGVVLRRTV PPMVNVTRSEASEGNITVTCRASGFYPWNITLSWRQDGVSLSHDTQQ WGDVLPDGNGTYQTWVATRICQGEEQRFTCYMEHSGNHSTHPVPS GKVLVLQSHW(서열 번호 92)
MICB 세포외 도메인	AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSGFLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRAKP QGQWAEDVLGAKTWDTETEDLTENGQDLRRTLTHIKDQKGGLHSL QEIRVCEIHEDSSTRGSRHFYYDGELFLSQNLETQESTVPQSSRAQTL AMNVTNFWKEDAMKTKTHYRAMQADCLQKLQRYLKSGVAIRRTV PPMVNVTCSEVSEGNITVTCRASSFYPRNITLTWRQDGVSLSHNTQQ WGDVLPDGNGTYQTWVATRIRQGEEQRFTCYMEHSGNHGTHPVPS GKVLVLQSQRTD(서열 번호 93)
TGFb 수용체 II 세포외 도메인	IPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTCDNQKSCMS NCSITSICEKPQEVCVAVWRKNDENITLETVCHDPKLPYHDFILEDAA
	SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPD(서열 번호 94)

[0870]

[0871] [표 3]

예시적인 링커의 서열

서열
IEGR(서열 번호 95)
GGGGS(서열 번호 96)
GGSGGGSG(서열 번호 97)
GGGGSGGGGS(서열 번호 98)
GGGGSGGGGSGGGGS(서열 번호 99)
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(서열 번호 100)
GGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG(서열 번호 101)
AEAAAKEAAAKA(서열 번호 102)
AEAAAKEAAAKEAAAKA(서열 번호 103)
APAPAPAPA(서열 번호 104)
APAPAPAPAPAPAPAPAPAP(서열 번호 105)

[0872]

[0873] [표 4]

예시적인 작제물의 전장 서열

작제물	사슬 1	사슬 2
α-PDGFRb 1 S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGF SLTNYAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYNSALKSRL TISKDTSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYFFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GL YSLS S WT VPS S SLGTQT YIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 107)

[0874]

작제물	사슬 1	사슬 2
	KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PEEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(서열 번호 106)	
α-SIRPA 1 S239D/I332E	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSC TTSGFNFKDMYIHWVKQRPQQ GLEWIGRIDPENDDTKYDPKFQ DKATITADTSSNTAYLQLSNLPS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 108)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVESGV PARFSGSGSGTDFSLNIYPVEE DDIAMYFCQQSRRVWTFGGG TKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC(서열 번호 109)

[0875]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-SIRPA 2 S239D/I332E	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 110)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 111)
α-SIRPA 3 S239D/I332E	EVQLQQSGAELVKPGASVKLSC TASGFNIKDSYMHWVKQRTEQ GLEWIGRIDPEDGETKYAPKFQ GKATITADTSSNTAYLQLTSLTS EDTAVYYCARRGFYWGQGTTL TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPK	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTL TCSASSSVSSSYLYWYQQKP GSSPKLWIYSTSNLASGVPAR FSGSGSGTSYSLTISSMEAED AASYFCYQWSTHPYTFGGGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSP

[0876]

작제물	사슬 1	사슬 2
	DTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 112)	VTKSFNRGEC(서열 번호 113)
α-FAPa 1 S239D/I332E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKTSRYTFTEYTIHWVRQAPGQ RLEWIGGINPNNGIPNYNQKFK GRVTITVDTSASTAYMELSSLRS EDTAVYYCARRRIAYGYDEGH AMD YWGQGTL VT VS S AKTT AP S VYPL AP VCGDTTGS S VTLGCL VKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGV HTFP AVLQ SDL YTL S S S VT VTS S TWPSQSITCNVAHPASSTKVDK KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLG GPDVFIFPPKIKDVLMISLSPIVT CVVVDVSEDDPDVQISWFVNN VEVHTAQTQTHREDYNSTLRVV SALPIQHQDWMSGKEFKCKVN NKDLPAPEERTISKPKGSVRAPQ VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV TDFMPEDIYVEWTNNGKTELNY KNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVE KKNWVERNSYSCSVVHEGLHN HHTTKSFSRTPGK(서열 번호 114)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSQSLLYSRNQKNYLAW YQQKPGQPPKLLIFWASTRES GVPDRF SGSGFGTDFTLTIS SL Q AED VAVY YCQQ YF S YPLTF GQGTKVEIKRADAAPTVSIFP PSSEQLTSGGASVVCFLNNFY PKDINVKWKIDGSERQNGVL NSWTDQDSKDSTYSMSSTLT LTKDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRNEC(서열 번호 115)

[0877]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-FAPa 2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSSYAMSWVRQAPGK GLEWVSAIIGSGASTYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKGWFGGFNYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP S SKSTSGGT AALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(서열 번호 116)	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLS CRASQSVTSSYLAWYQQKPG QAPRLLINVGSRRATGIPDRF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA VYYCQQGIMLPPTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQES VTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC(서열 번호 117)
α-PDL1 1 S239D/I332E	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISC KVSGYTFTSYWMYWVRQARG QRLEWIGRIDPNSGSTKYNEKFK NRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDYRKGLYAMD YWGQGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPS SKSTSGGT AALGCLVKD Y FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD	AIQLTQ SP S SLS AS VGDRVTIT CKASQDVGTAVAWYLQKPG QSPQLLIYWASTRHTGVPSRF SGSGSGTDFTFTISSLEAEDAA TYYCQQYNSYPLTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQES VTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC(서열 번호 119)

[0878]

각제물	사슬 1	사슬 2
	VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPEEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VM HEA LHNHYT QKSLSLSPGK(서열 번호 118)	
α-uPAR 1 S239D/I332E	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSC AASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWYDGSNKYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDQHIVVVTAI LDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK(서열 번호 120)	DIVMTQSPDSLSVSLGERATI NCKSSQSVLYGSNNRNSLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQQYYSIFPWT FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 121)

[0879]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-IGFIR 1 S239D/I332E	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSIYRMQWVRQAPGKG LEWVSGISPSGGTTWYADSVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARWSGGSGYAFDI WGQGTMVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPEEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VM HEA LHNHYT QKSLSLSPGK(서열 번호 122)	DIQMTQSPLSLSASVGDRVTI TCQASRDIRNYLNWYQQKPG KAPKLLIYDASSLQTGVPSRF GGSGSGTDFSFTIGSLQPEDIA TYYCQQFDSLPHTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQES VTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC(서열 번호 123)
α-IGFIR 2 S239D/I332E	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTF SNYPMYWVRQ APGK GLEWVSRISSSGGRTVYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCARDRWSRSAAEY GLGGYWGQGTLVT VS S ASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL	DIQMTQSPDSLAVSLGERATI NCKS SQS VLYS SNNKNYL AW YQQKPGQPPKLLIYLASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQQYYSTWTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQ

[0880]

작제물	사슬 1	사슬 2
	GGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPEEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 124)	GLSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 125)
α-ANTXRl 1 mIgG2a S239D/I332E	QVQLVQSGAEVKKPGTSVKVSC K VPGYTF S S YAIS WVRQ APGQG LEWMGGIIPIFGTTNYAQKFQGR VTITGEESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARDTDYMFDYWGQG TLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGS S VTLGCL VKGYFPEP V TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC N VAHP AS STKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNLLGGPDVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPE ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK(서열 번호 281)	SSELTQDPVVSVALGETVSIT CQGDNLRDFYASWYQQKPG QAPLLVMYGKNRRPSGIPDR FSGSTSGNTLSLTITGAQAED EAD YYC S SRDNSKHVVFGGG TKVTVLGQPKSSPSVTLFPPSS EELETNKATLVCTITDFYPGV VTVDWKVDGTPVTQGMETT QPSKQSNNKYMASSYLTLTA RAWERHS S YSCQ VTHEGHT V EKSLSRADCS(서열 번호 282)

[0881]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-ANTXR1 2 mIgG2a S239D/I332E	QVQLKESPGALVKPTQTLTLTC TFSGFSLSTSGGGVSWIRQPPGK ALEWLAHIYSNDDKSYSTSLKT RLTISKDTSKNQVVLTMTNMDP VDTATYYCARGGYFLDYWGQG TLVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGS S VTLGCL VKGYFPEP V TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC N VAHP AS STKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNLLGGPDVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPE ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK(서열 번호 283)	DIELTQPPSVSVAPGQTARISC SGDNIGGIYVHWYQQKPGQA PVLVIYADSKRPSGIPERFSGS NSGNTATLTISGTQAEDEADY YCQSYDITSLVFGGGTKLTVL GQPKSSPSVTLFPPSSEELETN KATLVCTITDFYPGVVTVDW KVDGTPVTQGMETTQPSKQS NNK YM A S S YLTLT ARAWER HSSYSCQVTHEGHTVEKSLSR ADCS(서열 번호 284)
α-CD248 1 mIgG2a S239D/I332E	QVQLQESGPGLVAPSQSLSITCT VSGF SLTGYGVNWVRQPPEKGL EWLGMIWVDGSTDYNSALKSR LNISKDKSKSQVFLKMNSLQTD DTARYYCARGGYGAMDYWGQ GTSVTVSSAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGS S VTLGCL VKGYFPEP V TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC N VAHP AS STKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNLLGGPDVFIFPP	DIQMNQSPSSLSASLGDTITIT CHASQNINVWLTWYQQKPG NIPKLLIYKASNLHTGVPSRFS GSGSGTGFTLTISSLQPEDIAT YYCQQGQ SYPWTFGGGTKLE IKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVK WKIDGSERQNGVLNSWTDQ DSKDSTYSMSSTLTLTKDEYE RHNSYTCEATHKTSTSPIVKS FNRNEC(서열 번호 286)

[0882]

작제물	사슬 1	사슬 2
	KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPE ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK(서열 번호 285)	
α-CD248 2 mIgG2a S239D/I332E	QVQLQESGPGLVRPSQTLSLTCT ASGYTFTDYVIHWVKQPPGRGL EWIGYINPYDDDTTYNQKFKGR VTMLVDTSSNTAYLRLSSVTAE DTAVYYCARRGNSYDGYFDYS MDYWGSGTPVTVSSAKTTAPSV YPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVK GYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTF PAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWP SQSITCNVAHPASSTKVDKKIEP RGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPD VFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVH TAQTQTHREDYNSTLRVVSALPI QHQDWMSGKEFKCKVNNKDLP APEERTISKPKGSVRAPQVYVLP PPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMP EDIYVEWTNNGKTELNYKNTEP VLDSDGSYFMYSKLRVEKKNW VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTK SFSRTPGK(서열 번호 287)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRASQNVGTAVAWLQQTP GKAPKLLIYSASNRYTGVPSR FSGSGSGTDYTFTISSLQPEDI ATYYCQQYTNYPMYTFGQG TKVQIKRADAAPTVSIFPPSSE QLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSW TDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSP IVKSFNRNEC(서열 번호 288)

[0883]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-GPC3 1 mIgG2a S239D/I332E	QVQLQQSGAELVRPGASVKLSC KASGYTFTDYEMHWVKQTPVH GLKWIGALDPKTGDTAYSQKFK GKATLTADKS S STAYMELRSLT SEDSAVYYCTRFYSYTYWGQG TLVTVSAAKTTAPSVYPLAPVC GDTTGS S VTLGCL VKGYFPEP V TLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQS DLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITC N VAHP AS STKVDKKIEPRGPTIK PCPPCKCPAPNLLGGPDVFIFPP KIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSE DDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ DWMSGKEFKCKVNNKDLPAPE ERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPE EEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYKNTEPVL DSDGSYFMYSKLRVEKKNWVE RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK(서열 번호 289)	DVVMTQTPLSLPVSLGDQASI SCRSSQSLVHSNGNTYLHWY LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRV EAEDLGVYFCSQNTHVPPTF GSGTKLEIKRADAAPTVSIFPP SSEQLTSGGASVVCFLNNFYP KDINVKWKIDGSERQNGVLN SWTDQDSKDSTYSMSSTLTL TKDEYERHNSYTCEATHKTS TSPIVKSFNRNEC(서열 번호 290)
α-SIRPA 2 mIgG2a S239D/I332E	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAAKTTAPSVYPLAPVCGD TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLT WNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA HPAS STKVDKKIEPRGPTIKPCPP CKCPAPNLLGGPDVFIFPPKIKD	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRADAAPTVSIFPPS SEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNS WTDQDSKDSTYSMSSTLTLT KDEYERHNSYTCEATHKTST

[0884]

작제물	사슬 1	사슬 2
	VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPD VQISWFVNNVEVHTAQTQTHRE DYNSTLRVVSALPIQHQDWMSG KEFKCKVNNKDLPAPEERTISKP KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKK QVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY FM YSKLRVEKKNW VERN SYS C S VVHEGLHNHHTTKSF SRTPGK(서열 번호 291)	SPIVKSFNRNEC(서열 번호 292)
α-PDGFRb 1 L234A/L235A	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGF SLTNYAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYNSALKSRL TISKDTSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYFFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GL YSLS S WT VPS S SLGTQT YIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK(서열 번호 126)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 127)

[0885]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-SIRPA 2	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLD SD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 128)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 129)
α-SIRPA 2 L234A/L235A	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG

[0886]

작제물	사슬 1	사슬 2
	KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLD SD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 130)	LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 131)
α-SIRPA 2 S239D/A330L/I332E	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPLPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 132)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 133)

[0887]

작제물	사슬 1	사슬 2
α-SIRPA 2 F243L/R292P/Y300L	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLLPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLD SD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 134)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 135)
α-SIRPA 2 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L	EVQLQQSGAELVKPGASVKVSC TGSGFNFKDMYLHWVKQRPEQ GLEWIGRIDPENDSTKYDPKFQ DKATLTADTASNTAYLQISSLTS EDTAVYYCARGNYVHWGQGTL VTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELVGGPSVFLLPPKP	DIVLTQSPASLAVSLGQRATIS CRASESVQYYGTSLMQWYQ QKPGQPPKLLIYAASNVGSG VPARF SGSGSGTDF SLNIHP V EEDDIAMYFCQQTRRVWTFG GGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQG

[0888]

작제물	사슬 1	사슬 2
	KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PPEEQYNSTLRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPLVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 136)	LSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 137)
hIgG1 Fc-NKG2D	PKS SDKTHTCPPCP APELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VMHE ALHNHYT QKSLSLSPGKIEGRFLNSLFNQE VQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTV(서열 번호 138)	N/A

[0889]

작제물	사슬 1	사슬 2
hIgG1 Fc-NKG2D S239D/I332E	PKS SDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPEEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VM HEA LHNHYT QKSLSLSPGKIEGRFLNSLFNQE VQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTV(서열 번호 139)	N/A
hIgG1 Fc-NKG2D L234A/L235A	PKSSDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VMHE A LHNH YT QKSLSLSPGKIEGRFLNSLFNQE VQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS	N/A

[0890]

작제물	사슬 1	사슬 2
	YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTV(서열 번호 140)	
NKG2D-hIgG1 Fc S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGFLNSLFNQ EVQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTVGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSPKSS DKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(서열 번호 141)	N/A

[0891]

작제물	사슬 1	사슬 2
NKG2D-hIgG1 Fc L234A/L235A	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DCAL YASSFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGFLNSLFNQ EVQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTVGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSPKSS DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(서열 번호 142)	N/A
α-TIGIT 1 IgG1	EVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTC AISGDSVSSNSAAWNWIRQSPSR GLEWLGKTYYRFKWYSDYAVS VKGRITINPDTSKNQF SLQLNS V TPEDTAVFYCTRESTTYDLLAGP FDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKS SQTVL YS SNNKKYLAW YQQKPGQPPNLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCQQYYSTPFTF GPGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFY

[0892]

[0893]

작제물	사슬 1	사슬 2
	YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK(서열 번호 293)	PREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC(서열 번호 294)
α-PVRIG 1 IgG4	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVS CKASGYTFTDYNINWVRQAPG QGLEWMGYIYPYIGGSGYAQKF QGRVTMTRDTSTSTVYMELSSL RSEDTAVYYCAREDKTARNAM DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCRVSENIYSNLAWYQQKPG KAPKLLIYEATNLAEGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQHFWGTPYTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQ SGNSQES VTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC(서열 번호 296)

[0894]

작제물	사슬 1	사슬 2
	VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVF SC S VMHEALHNHYTQK SLSLSLG(서열 번호 295)	

[0895] 이들 예시적인 작제물의 이들 각각의 항원에 대한 결합 활성이 **도 1a 내지 도 1j**에 입증되어 있다. 간략하게 말하면, PDGFRb, FAPa, ULBP1, uPAR, IGF1R, SIRPA, PD-L1, ANTXR1, CD248, 또는 GPC3의 재조합 세포외 도메인(30 ng/웰)을 백색 OptiPlate TM-384 웰 HB 플레이트 상에 코팅하였다. 하룻밤 코팅 후에, 표준 직접 ELISA 검정을 수행하였다. HRP가 접합된 2차 항체를 사용한 후에 발광 신호를 검출하였다. 각각의 항체의 결합 활성을 용량 의존적 결합 곡선에 기초하여 결정하였다.

[0896] 활성화된 HSC 상의 항원의 상대 발현 수준을 FACS를 사용하여 검정하였다. 인간 1차 간 성상 세포(ScienCell, 5301)를 배양 배지(ScienCell, 5300) 중에서 배양하였다. 세포를 2 ng/ml의 인간 TGFb1(Sinobiological, 10804-HNAC)을 사용하여 24시간 동안 활성화하였다. 이어서, 이들 세포를 FACS 검정을 위해 수집하였다. 간략하게 말하면, 세포를 차단 완충액(PBS 중 10% FBS) 중 10 ug/ml의 1차 항체와 함께 4℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 2회 라운드의 PBS 세척 후, 세포를 형광단과 접합된 2차 항체로 염색하였다. 평균 형광 강도를 FACS를 사용하여 측정하였다. FACS 결과가 **도 2a 내지 도 2f**에 요약되어 있다. 시험된 항원 중에서, 섬유아세

포 활성화 단백질 알파(FAPa)는 비교적 높은 수준으로 발현된 반면, uPAR, IGF-1R, GPC3, CD248 및 NKG2D 리간드는 TGFb1-활성화된 HSC 세포 상에서 비교적 낮은 수준으로 발현되었다.

[0897] 시험관내 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 검정을 인간 1차 NK 또는 PBMC 세포와 TGFb1-활성화된 HSC 세포의 공동배양에 의해 수행하였다. 간략하게 말하면, 인간 1차 NK 또는 PBMC 세포를 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지 중에서 100 U/ml의 IL-2로 하룻밤 활성화시켰다. 인간 1차 HSC 세포를 2 ng/ml의 hTGFb1로 하룻밤 활성화시켰다. ADCC 검정 당일에, 활성화된 HSC 세포를 수집하고, U자형 96웰 플레이트 상에 시딩하였다. 이들 세포를 37℃에서 30분 동안 상이한 농도의 시험 항체(모두 Fc 영역에 S239D/I332E 돌연변이를 함유함)로 전처리하였다. 전처리 후에, 활성화된 NK 또는 PBMC 세포를 수집하고, E:T 비 = 4:1(NK 세포의 경우) 또는 E:T 비 = 25:1 또는 50:1(PBMC 세포의 경우)로 플레이트 상에 시딩하였다. 공동배양물을 37℃에서 추가 4시간 동안 추가로 배양하였다. 공동배양 후, 배양 배지를 수집하고, 죽어가는 세포로부터 방출되는 LDH를 CytoTox 96® 비방사성 세포독성 검정 키트(Non-Radioactive Cytotoxicity Assay Kit)(Promega, G1780)에 의해 측정하였다. **도 3a 내지 도 3g**에 나타낸 바와 같이, 표면 항원을 표적화하는 모든 항체는 인간 NK/PBMC를 HSC 세포와 공동배양한 후 HSC에 대해 ADCC 세포독성을 발휘하였다. 항체 또는 단백질을 시험함으로써 유도된 세포독성의 크기는 표적 단백질의 발현 수준으로 인해 달라졌다. 표적 항원이 활성화된 HSC 세포 상에서 발현하는 한, 항체 또는 재조합 단백질 중 어느 것을 사용해도 ADCC 효과가 존재한다.

[0898] **7.2실시예 2: 활성화된 HSC에 대한 ADCC 세포독성에 대해 Fc 이펙터 기능이 필요하다**

[0899] 항체의 Fc 영역과 면역 세포 상의 Fc 감마 수용체 사이의 상호작용은 ADCC, 항체 의존성 세포 식세포작용(ADCP) 등을 포함한 이펙터 기능에 중요하다. 인간 IgG1의 Fc 영역 상의 비-푸코실화 및 소정 돌연변이 둘 모두는 ADCC의 이펙터 기능을 향상시킨다. 그러한 예시적인 비제한적인 Fc 돌연변이는 EU 넘버링에 따라 위치 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 250, 253, 254, 255, 256, 258, 260, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 268, 269, 270, 272, 274, 276, 280, 282, 283, 285, 286, 288, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 303, 307, 311, 312, 313, 315, 317, 318, 320, 322, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 339, 340, 342, 344, 345, 347, 355, 356, 358, 359, 360, 361, 362, 373, 375, 376, 378, 380, 382, 383, 384, 386, 388, 389, 390, 391, 392, 396, 398, 400, 401, 413, 414, 415, 416, 418, 419, 421, 422, 424, 428, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 444, 447에 아미노산의 하나 이상의 변경을 함유하는 Fc 변이체를 포함하며(예를 들어, 문헌[Sondermann *et al.*, Nature, 406: 267-273 (2000)]; US8951517B2호; US9714282B2호; 및 US20090208500A1호를 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 참고로 포함됨), 이들은 ADCC를 향상시키기 위해 본 Fc-함유 결합 분자 내에 도입될 수 있다.

[0900] 예시적인 돌연변이를 Fc 영역에 도입하여 이펙터 기능, 특히 ADCC 활성을 향상시키거나 소실시켰다. S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L 돌연변이를 조작하여 이펙터 기능을 향상시켰다. L234A/L235A 또는 N297S를 조작하여 이펙터 기능을 제거하였다. 예시적인 불변 영역 및 이의 변이체가 하기 표 5에 나타나 있다.

[0901] IL-2-활성화된 NK 또는 PBMC를 hTGFb1-활성화된 인간 1차 HSC 세포와 공동배양함으로써 시험관내 ADCC 검정을 수행하였다. **도 4a**에 나타낸 바와 같이, 야생형 hIgG1 Fc를 갖는 항-SIRPA 항체 α-SIRPA 2는 HSC 세포에 대해 용량 의존성 ADCC 세포독성을 유도하였다. 이러한 효과는 돌연변이(S239D/I332E, S239D/A330L/I332E, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, 또는 F243L/R292P/Y300L)에 의해 향상되었다. ADCC 효과는 침묵 돌연변이 L234A/L235A에 의해 완전히 감소되었다. 항-PDGFRb 항체 및 NKG2D-Fc 융합 단백질에 대해 Fc 의존성 ADCC 효과가 또한 관찰되었다. **도 4b 및 도 4c**에 나타낸 바와 같이, 향상된 이펙터 기능을 갖는 S239D/I332E 돌연변이는 ADCC 세포독성을 증가시킨 반면, 침묵 돌연변이(항-PDGFRb 항체의 경우 N297S, NKG2D-Fc 단백질의 경우 L234A/L235A)는 ADCC 효과를 소실시켰다.

[0902] [표 5]

예시적인 불변 영역 서열

	서열
CL 카파	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC(서열 번호 143)
CH 야생형	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 144)
CH S239D/I332E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK(서열 번호 145)

[0903]

	서열
CH L234A/L235A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 146)
CH S239D/A330L/ I332E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK(서열 번호 147)
CH L235V/F243L/ R292P/Y300L/ P396L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELVGGPSVFLLPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 148)
CH F243L/R292P/ Y300L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLLPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPPEEQYNSTLRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 149)

[0904]

	서열
CHN297S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYSSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK(서열 번호 150)
CH2-CH3	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 151)
CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKV(서열 번호 152)
CH2-CH3 S239D/I332E	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K(서열 번호 153)
CH2-CH3 N297S	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYSSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 154)

[0905]

[0906] 본 명세서에서는, 생체내에서 간 활성화된 HSC의 고갈을 위해 Fc 이펙터 기능이 또한 필요하다는 것이 입증되었다. 향상된 ADCC 이펙터 기능을 갖는 항체는 마우스 간에서 활성화된 HSC를 효율적으로 제거할 수 있었지만, 소실된 ADCC 이펙터 기능을 갖는 비견되는 항체는 간 섬유증에 대한 마우스 모델에서 효과가 없었다. 간략하게 말하면, 수컷 야생형 C57 마우스를 3주 동안 CCL4(0.7 ml/kg, i.p. 주사, 주 3회)로 처리하여 HSC 세포 활성화 및 간 섬유증을 유도하였다. 중쇄 C 말단에 TGFb1 수용체 II 세포외 도메인(TRII)이 융합된 항-마우스 PDGFRb 항체(1B3, US7740850B2호 참조)의 이중특이성 항체(1B3-TRII S239D/I332E 및 1B3-TRII L234A/L235A)의 단회 용량(45 mg/kg, i.v. 주사)을 이들 동물에게 제공하였다. 항체들을 모두 mIgG2a로서 조작하였으며, 이펙터 기능 향상 돌연변이로서의 S239D/I332E 또는 이펙터 기능 침묵 돌연변이로서의 L234A/L235A 중 어느 하나의 Fc 돌연변이를 가졌다. 항체 투여 후 48시간 시점에서 간 조직을 수집하였다. 간 샘플을 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 RIPA 용해 완충액 중에서 균질화하였다. 원심분리 후에, 상층액을 간 용해물로서 수집하였다. 간 용해물 중의 총 PDGFRb 단백질 수준을 간에서의 활성화된 HSC 세포 고갈의 지표로서 웨스턴 블롯에 의해 측정하였다. **도 5**에 나타낸 바와 같이, 1B3-TRII S239D/I332E(중쇄 C-말단 연결된 TRII, mIgG2a, Fc 내의 S239D/I332E 돌연변이를 갖는 항-mPDGFRb 항체) 처리는 간에서의 총 PDGFRb 단백질 수준을 유의하게 감소시킨 반면, 1B3-TRII L234A/L235A(중쇄 C-말단 연결된 TRII, mIgG2a, Fc 내의 L234A/L235A 돌연변이를 갖는 항-mPDGFRb 항체)는 총 PDGFRb 단백질 수준에 대해 어떠한 효과도 갖지 않았다. 추가의 간 샘플을 용해 완충액(PBS:Me 3:1) 중에서 균질화하였다. 원심분리 후, 간에서의 항체 농도의 결정을 위해 상층액을 수집하였다. 간에서의 시험 항체 수준을 코팅 항원으로서의 마우스 PDGFRb ECD 및 검출 항체로서의 항-TRII 항체와 함께 직접 ELISA를 사용하여 측정하였다. 간에서의 비견되는 항체 농도가 1B3-TRII S239D/I332E 처리군과 1B3-TRII L234A/L235A 처리군 사이에서 관찰되었는데(**도 6**), 이는 2개의 처리군에 의한 총 PDGFRb 수준에 대한 차등 효과가 간에서의 상이한 항체 노출에 기인되지 않았음을 시사한다.

[0907] 다음으로, 항-마우스 PDGFRb 항체의 다회 용량 연구를 CCL4-처리된 마우스에서 수행하였다. 수컷 야생형

C57BL/6J 마우스를 3주 동안 CCL4(0.7 ml/kg, i.p. 주사, 주 3회)로 처리하여 HSC 세포 활성화를 유도하였다. 이어서, 이들 마우스에게 추가 4주 동안 CCL4 주사와 함께 45 mg/kg의 항-마우스 PDGFRb 이중특이성 항체(1B3-TRII S239D/I332E, 1B3-TRII L234A/L235A)(i.v., 4주 동안 주 2회, 총 8회 용량)를 제공하였다. 간 샘플을 수집하고, 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 RIPA 용해 완충액 중에서 균질화하였다. 원심분리 후에, 상층액을 간 용해물로서 수집하였다. 간 용해물 중의 총 PDGFRb 수준을 샌드위치 ELISA에 의해 측정하였다. 항-PDGFRb 항체(abcam Ab32570)를 포획 항체로서 사용하였다. 1B3 mIgG2a를 검출 항체로서 사용하였다. **도 12c**에 나타낸 바와 같이, 단회 용량 연구와 일치되게, 다회 용량의 1B3-TRII S239D/I332E 처리는 간에서의 총 PDGFRb 단백질 수준을 유의하게 감소시킨 반면, 다회 용량의 1B3-TRII L234A/L235A는 총 PDGFRb 단백질 수준에 대해 어떠한 유의한 영향도 미치지 않았는데, 이는 생체내에서의 활성화된 HSC의 고갈에 대한 항체 Fc 이펙터 기능의 중요한 역할을 확인시켜 준다. 항체 노출은 HSC 고갈에 대한 이러한 차등 효과에 기여하였을 가능성이 없었다. 혈청 항체 수준을 코팅 항원으로서의 마우스 PDGFRb 및 검출 항체로서의 항-TRII 항체와 함께 직접 ELISA를 사용하여 결정하였다. 혈청 중의 1B3-TRII S239D/I332E 농도는 처리 시작 후 일수 9 및 일수 27에서 1B3-TRII L234A/L235A보다 더 낮았다(**도 7**).

[0908] 이들 결과는, 향상된 ADCC 이펙터 기능을 갖는 활성화된 HSC-표적화 항체가 시험관내 및 생체내 둘 모두에서 활성화된 HSC를 효율적으로 고갈시킬 수 있었으며, 이로써 활성화된 HSC-관련 섬유성 질병 또는 장애에 효과적인 치료제로서 사용될 수 있음을 입증한다.

[0909] **7.3.실시예 3: 다수의 표면 단백질을 표적화함으로써, 활성화된 HSC에 대한 증가된 세포독성**

[0910] aHSC 세포 상의 다수의 표적을 표적화하도록 이중특이성 항체를 설계하였다. NKG2D의 세포외 도메인을 α-PDGFRb 1 S239D/I332E에 융합시켜 노브-인투-홀 이중특이성 항체(α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E)를 제조하였다. 이 이중특이성 항체는 aHSC 세포 상에서 발현되는 인간 PDGFRb 및 NKG2D 리간드(예를 들어, MICA, MICB)를 인식할 수 있었다. 이의 예시적인 작제물이 하기 표 6에 나타나 있다. 이중특이성 항체 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E를 정제하였다. **도 8a** 및 **도 8b**에 나타낸 바와 같이, 이중특이성 항체 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E는 ELISA 검정에서 용량 의존적 방식으로 인간 PDGFRb ECD 및 MICA ECD 둘 모두에 결합한다. 시험관내 ADCC 검정에서, α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E, α-PDGFRb 1 S239D/I332E 및 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E는 모두 aHSC 세포에 대해 세포독성을 용량 의존적으로 증가시켰다. α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E는 α-PDGFRb 1 S239D/I332E 또는 NKG2D hIgG1 Fc S239D/I332E의 단독 처리에 비해 최대 aHSC 살해를 추가로 증가시켰다(**도 8c**).

[0911] [표 6]

예시적인 α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E 작제물의 전장 서열

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
α-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPS	FLNSLFNQEVQIP	DIQMTQSPSSLSAS
	ETLSLTCTVSGFSLTN	LTESYCGPCPKN	VGDRVTITCHASQN
	YAINWVRQPPGKGL	WICYKNNCYQFF	INVWLSWYQQKPG
	EWLGIIWTGGGTSYN	DESKNWYESQAS	KAPKLLIYKASNLH
	SALKSRLTISKDTSK	CMSQNASLLKVY	TGVPSRFSGSGSGT
	NQVSLKLSSVTAADT	SKEDQDLLKLVK	GFTLTISSLQPEDIA
	AVYYCARTGTRGYF FD	SYHWMGLVHIPT	TYYCQQGQSFPFTF
	YWGQGTL VT VS S	NGSWQWEDGSIL	GGGTKVEIKRTVA
	ASTKGPSVFPLAPSS	SPNLLTIIEMQKG	APSVFIFPPSDEQLK
	KSTSGGTAALGCLV	DCALYASSFKGYI	SGTASVVCLLNNFY
	KDYFPEPVTVSWNS	ENCSTPNTYICMQ	PREAKVQWKVDN
	GALTSGVHTFPAVLQ	RTVGGSGGGSGF	ALQSGNSQESVTEQ
	SSGLYSLSSVVTVPSS	LNSLFNQEVQIPL	DSKDSTYSLSSTLT
	SLGTQTYICNVNHKP	TESYCGPCPKNWI	LSKADYEKHKVYA
	SNTKVDKKVEPKSC	CYKNNCYQFFDE	CEVTHQGLSSPVTK
	DKTHTCPPCPAPELL	SKNWYESQASCM	SFNRGEC(서열 번호 299)
	GGPDVFLFPPKPKDT	SQNASLLKVYSK	
	LMISRTPEVTCVVVD	EDQDLLKLVKSY	
	VSHEDPEVKFNWYV	HWMGLVHIPTNG	
	DGVEVHNAKTKPRE	SWQWEDGSILSP	
	EQYNSTYRVVSVLT	NLLTIIEMQKGDC	
	VLHQDWLNGKEYKC	ALYASSFKGYIEN	
	KVSNKALPAPEEKTI	CSTPNTYICMQRT	
	SKAKGQPREPQVCTL	VGGGGSGGGGSG	
	PPSREEMTKNQVSLS	GGGSGGGGSPKS	
	CAVKGFYPSDIAVE	SDKTHTCPPCPAP	
	WESNGQPENNYKTT	ELLGGPDVFLFPP	
	PPVLDSDGSFFLVSK	KPKDTLMISRTPE	
	LTVDKSRWQQGNVF	VTCVVVDVSHED	
	SCSVMHEALHNHYT	PEVKFNWYVDGV	

[0912]

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
	QKSLSLSPGK(서열 번호 297)	EVHNAKTKPREE	
		QYNSTYRVVSVL	
		TVLHQDWLNGKE	
		YKCKVSNKALPA	
		PEEKTISKAKGQP	
		REPQVYTLPPCRD	
		ELTKNQVSLWCL	
		VKGFYPSDIAVE	
		WESNGQPENNYK	
		TTPPVLDSDGSFF	
		LYSKLTVDKSRW	
		QQGNVFSCSVMH	
		EALHNHYTQKSL	
		SLSPGK(서열 번호 298)	

[0913]

[0914] **7.4.실시예 4: 면역 세포를 활성화함으로써, 활성화된 HSC에 대한 증가된 세포독성**

[0915] Fc 의존성 이펙터 기능에 추가하여, 면역 세포(예컨대 NK 세포)에 대한 면역 수용체의 활성을 조작함에 의한 면역 세포의 활성화는 활성화된 HSC에 대한 세포독성을 추가로 향상시키기 위한 다른 접근법일 수 있다. 비제한적인 태양에서, 이들 면역 관문 수용체는 NKp46, NKp30, NKp44, NKG2C, CD94, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS2, KIR2DL4, KIR3DS1, CD160, NKG2D, NKp80, DNAM1, 2B4, NTB-A, CRACC, 4-1BB, OX40, CRTAM, CD16, LFA1, NKG2A, KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL2, LILRB1, KIR2DL5, KLRG1, CD161, SIGLEC7, SIGLEC9, LAIR1, TIGIT, CD96, PD-1, PVRIG, CD122, CD132, CD218a, CD218b, IL12Rb1, IL12Rb2, IL21R, TGFBR1, TGFBR2, TGFBR3, ACVR2A, ACVR2B, ALK4, 및 A2a를 포함한다.

[0916] HSC를 고갈시키기 위해 세포-매개 세포독성에 대한 면역 세포 수용체의 활성을 조절하는 효과를 추가로 조사하기 위해, 다양한 설계 및 작제물을 개발하였다. 활성화된 HSC에 결합하는 하나의 모티프 및 면역 세포를 활성화하기 위한 다른 하나의 모티프를 사용하여 이중특이성 항체를 설계하였다. NKG2D는 세포독성 활성을 갖는 면역 세포 상에서 발현되는 활성화 수용체이다. NKG2D의 인게이지먼트(engagement)는 면역 세포를 활성화하여 표적 세포에 세포용해 기능을 발휘하게 할 수 있다. 항-PDGFRb 항체의 중쇄의 N-말단 또는 C-말단 중 어느 하나에 대한 NKG2D 리간드(예를 들어, MICA, MICB, ULBP1, ULBP2)의 ECD의 융합에 의한 이중특이성 항체를 설계 및 정제하였다. 이의 예시적인 작제물이 하기 표 7에 나타나 있다.

[0917] 이들 이중특이성 작제물의 효과를 시험관내 ADCC 세포독성 검정에서 평가하였다. 항체 Fc 이펙터 ADCC 기능의 간섭을 피하기 위해, 이들 항체를 Fc와 Fc 감마 수용체 사이의 상호작용을 소실시키기 위해 이펙터 기능 침묵 돌연변이(L234A/L235A)를 함유하도록 조작하였다. **도 9**에 나타낸 바와 같이, 항-PDGFRb 항체 중쇄의 N-말단에 융합된 ULBP2의 ECD를 갖는 이중특이성 항체는 항-PDGFRb 항체 단독과 대비하여 활성화된 HSC 세포에 대해 더 많은 세포독성을 효율적으로 유도할 수 있었는데, 이는, NKG2D 신호전달 경로의 활성화가 항체-의존성 세포독성을 활성화된 HSC에 대해 추가로 향상시킬 수 있었음을 시사한다.

[0918] [표 7]

예시적인 α-PDGFRb 1-단백질 융합 작제물의 전장 서열

작제물	사슬 1	사슬 2
α-PDGFRb 1-TRII S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGF SLTNYAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYNSALKSRL TISKDTSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYFFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GL YSLS S VVT VPS S SLGTQT YIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PEEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 156)

[0919]

작제물	사슬 1	사슬 2
	LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGIPPHVQKSVNNDMIVT DNNGAVKFPQLCKFCDVRFSTC DNQKSCMSNCSITSICEKPQEVC VAVWRKNDENITLETVCHDPKL PYHDFILEDAASPKCIMKEKKKP GETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEY NTSNPD(서열 번호 155)	
MICA-GS-HC- α- PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WGGGGSQVQLQESGPGLVKPSE TLSLTCTVSGFSLTNYAINWVR QPPGKGLEWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCARTGTRGYFF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 158)

[0920]

작제물	사슬 1	사슬 2
	GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK(서열 번호 157)	
MICA-HC- α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WQVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGF SLTNYAINWVRQPPGK GLEWLGIIWTGGGTSYNSALKS RLTISKDTSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYYCARTGTRGYFFDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 160)

[0921]

작제물	사슬 1	사슬 2
	VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ S SGL YSL S S VVT VP S S SLGTQT YI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVF SC S VMHEALHNHYTQK SLSLSPGK(서열 번호 159)	
MICA-GS2-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WGGGGSGGGGSQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYA INWVRQPPGKGLEWLGIIWTGG GTSYNSALKSRLTISKDTSKNQV SLKLS S VT AADTAVYYC ARTGT	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 162)

[0922]

각제물	사슬 1	사슬 2
	RGYFFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP S S SLGTQT YICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 161)	
MICA-GS3-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQ ESGPGLVKPSETLSLTCTVSGFS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 164)

[0923]

작제물	사슬 1	사슬 2
	LTNYAINWVRQPPGKGLEWLGI IWTGGGTSYNSALKSRLTISKDT SKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC ARTGTRGYFFDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPEEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 163)	
MICA-GS4-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 166)

[0924]

작제물	사슬 1	사슬 2
	EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGF SLTNYAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYNSALKSRL TISKDTSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYFFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GL YSLS S VVT VPS S SLGTQT YIC NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PEEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(서열 번호 165)	
MICA-EAK2-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD

[0925]

작제물	사슬 1	사슬 2
	NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WAEAAAKEAAAKAQVQLQESG PGLVKPSETLSLTCTVSGFSLTN YAINWVRQPPGKGLEWLGIIWT GGGTSYNSALKSRLTISKDTSKN QVSLKLSSVTAADTAVYYCART GTRGYFFDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPS S SLGTQT YICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 167)	YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 168)
MICA-EAK3-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL

[0926]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WAEAAAKEAAAKEAAAKAQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GFSLTNYAINWVRQPPGKGLEW LGIIWTGGGTSYNSALKSRLTIS KDTSKNQVSLKLSSVTAADTAV YYCARTGTRGYFFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 169)	KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 170)

[0927]

작제물	사슬 1	사슬 2
MICA-AP-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WAPAPAPAPAQVQLQESGPGLV KPSETLSLTCTVSGFSLTNYAIN WVRQPPGKGLEWLGIIWTGGGT SYNSALKSRLTISKDTSKNQVSL KLS S VTAADT AVYYC ARTGTRG YFFD YWGQGTL VT VS S ASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPDVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPEEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 172)

[0928]

작제물	사슬 1	사슬 2
	DKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 171)	
NKG2D-GS1-NKG2D-GS4-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGFLNSLFNQ EVQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTVGG GGSGGGGSGGGGSGGGGQVQL QESGPGLVKPSETLSLTCTVSGF SLTNYAINWVRQPPGKGLEWLG IIWTGGGTSYNSALKSRLTISKD TSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CARTGTRGYFFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL S S VVTVPS S SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 174)

[0929]

작제물	사슬 1	사슬 2
	NGKEYKCKVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K(서열 번호 173)	
NKG2D-GS4-NKG2D-GS4-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DCAL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGFLNSLFNQEVQIPLT ESYCGPCPKNWICYKNNCYQFF DESKNWYESQASCMSQNASLL KVYSKEDQDLLKLVKSYHWMG LVHIPTNGSWQWEDGSILSPNLL TIIEMQKGDC ALYAS SFKGYIEN C STPNTYICMQRTVGGGGSGGG GSGGGGSGGGGQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYA INWVRQPPGKGLEWLGIIWTGG GTSYNSALKSRLTISKDTSKNQV SLKLS S VT AADTAVYYC ARTGT RGYFFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP S S SLGTQT YICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 176)

[0930]

작제물	사슬 1	사슬 2
	LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 175)	
NKG2D-GS1-NKG2D-EAK4-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGFLNSLFNQ EVQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTVAE AAAKEAAAKEAAAKEAAAKAQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SGF SLTNYAINWVRQPPGKGLE WLGIIWTGGGTSYNSALKSRLTI SKDTSKNQVSLKLSSVTAADTA VYYCARTGTRGYFFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 178)

[0931]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG L YSLS S VVT VPS S SLGTQT YICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPE EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 177)	
NKG2D-GS4-NKG2D-EAK4-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGGGGSGGG GSGFLNSLFNQEVQIPLTESYCG PCPKNWICYKNNCYQFFDESKN WYESQASCMSQNASLLKVYSK EDQDLLKLVKSYHWMGLVHIP TNGSWQWEDGSILSPNLLTIIEM QKGDCALYASSFKGYIENCSTP NTYICMQRTVAEAAAKEAAAK EAAAKEAAAKAQVQLQESGPG LVKPSETLSLTCTVSGFSLTNYA INWVRQPPGKGLEWLGIIWTGG GTSYNSALKSRLTISKDTSKNQV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 180)

[0932]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SLKLS S VT AADTAVYYCARTGT RGYFFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP S S SLGTQT YICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 179)	
NKG2D-GS1-NKG2D- AP-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGFLNSLFNQ EVQIPLTESYCGPCPKNWICYKN NCYQFFDESKNWYESQASCMS QNASLLKVYSKEDQDLLKLVKS YHWMGLVHIPTNGSWQWEDGS ILSPNLLTIIEMQKGDCALYASSF KGYIENCSTPNTYICMQRTVAP APAPAPAPAPAPAPAPAPQVQL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 182)

[0933]

작제물	사슬 1	사슬 2
	QESGPGLVKPSETLSLTCTVSGF SLTNYAINWVRQPPGKGLEWLG IIWTGGGTSYNSALKSRLTISKD TSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CARTGTRGYFFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL S S VVTVPS S SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K(서열 번호 181)	
NKG2D-GS4-NKG2D-AP-HC α-PDGFRb 1 S239D/I332E	FLNSLFNQEVQIPLTESYCGPCP KNWICYKNNCYQFFDESKNWY ESQASCMSQNASLLKVYSKEDQ DLLKLVKSYHWMGLVHIPTNGS WQWEDGSILSPNLLTIIEMQKG DC AL YAS SFKGYIENC STPNTYI CMQRTVGGSGGGSGGGGSGGG GSGFLNSLFNQEVQIPLTESYCG PCPKNWICYKNNCYQFFDESKN WYESQASCMSQNASLLKVYSK EDQDLLKLVKSYHWMGLVHIP	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 184)

[0934]

작제물	사슬 1	사슬 2
	TNGSWQWEDGSILSPNLLTIIEM QKGDCALYASSFKGYIENCSTP NTYICMQRTVAPAPAPAPAPAP APAPAPAPQVQLQESGPGLVKP SETLSLTCTVSGFSLTNYAINWV RQPPGKGLEWLGIIWTGGGTSY NSALKSRLTISKDTSKNQVSLKL S S VT AADT AVYYC ARTGTRGYF FDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK(서열 번호 183)	
MICB-EAK2-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSG FLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRA KPQGQWAEDVLGAKTWDTETE DLTENGQDLRRTLTHIKDQKGG LHSLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHF YYDGELFLSQNLETQESTVPQSS RAQTLAMNVTNFWKEDAMKT KTHYRAMQADCLQKLQRYLKS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT

[0935]

작제물	사슬 1	사슬 2
	GVAIRRT VPPMVNVTC SE VSEG NIT VTCRAS SF YPRNITLTWRQD GVSLSHNTQQWGDVLPDGNGT YQTWVATRIRQGEEQRFTCYME HSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQR TDAEAAAKEAAAKAQVQLQES GPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLT NYAINWVRQPPGKGLEWLGIIW TGGGTSYNSALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR TGTRGYFFD YWGQGTL VT VS SA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPEEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 185)	EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 186)
ULBP1-EAK2-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQ WCEVQGLVDERPFLHYDCVNH KAKAFASLGKKVNVTKTWEEQ TETLRDVVDFLKGQLLDIQVEN LIPIEPLTLQARMSCEHEAHGHG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK

[0936]

작제물	사슬 1	사슬 2
	RGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRK WTALHPGAKKMTEKWEKNRD VTMFFQKISLGDCKMWLEEFLM YWEQMLDPTKPPSLAPAEAAA KEAAAKAQVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGFSLTNYAINWVR QPPGKGLEWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSKNQVSLKLS SVTAADTAVYYCARTGTRGYFF DYWGQGTLVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP DVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPEEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK(서열 번호 187)	VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 188)
ULBP2-EAK2-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPR WCAVQGQVDEKTFLHYDCGNK TVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQ NPVLREVVDILTEQLRDIQLENY TPKEPLTLQARMSCEQKAEGHS SGS WQF SFDGQIFLLFD SEKRM WTTVHPGARKMKEKWENDKV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK

[0937]

작제물	사슬 1	사슬 2
	VAMSFHYF SMGDCIGWLEDFL MGMDSTLEPSAGAPLAMAEAA AKEAAAKAQVQLQESGPGLVK PSETLSLTCTVSGFSLTNYAINW VRQPPGKGLEWLGIIWTGGGTS YNSALKSRLTISKDTSKNQVSLK LSSVTAADTAVYYCARTGTRGY FFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PDVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPEEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK(서열 번호 189)	VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 190)
MICB-AP-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSG FLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRA KPQGQWAEDVLGAKTWDTETE DLTENGQDLRRTLTHIKDQKGG LHSLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHF YYDGELFLSQNLETQESTVPQSS RAQTLAMNVTNFWKEDAMKT KTHYRAMQADCLQKLQRYLKS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT

[0938]

작제물	사슬 1	사슬 2
	GVAIRRT VPPMVNVTC SE VSEG NIT VTCRAS SF YPRNITLTWRQD GVSLSHNTQQWGDVLPDGNGT YQTWVATRIRQGEEQRFTCYME HSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQR TDAPAPAPAPAQVQLQESGPGL VKPSETLSLTCTVSGFSLTNYAI NWVRQPPGKGLEWLGIIWTGG GTSYNSALKSRLTISKDTSKNQV SLKLS S VT AADTAVYYC ARTGT RGYFFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP S S SLGTQT YICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPDVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 191)	EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 192)
ULBP1-AP-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQ WCEVQGLVDERPFLHYDCVNH KAKAFASLGKKVNVTKTWEEQ TETLRDVVDFLKGQLLDIQVEN LIPIEPLTLQARMSCEHEAHGHG	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK

[0939]

작제물	사슬 1	사슬 2
	RGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRK WTALHPGAKKMTEKWEKNRD VTMFFQKISLGDCKMWLEEFLM YWEQMLDPTKPPSLAPAPAPAP APAQVQLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGFSLTNYAINWVRQPPG KGLEWLGIIWTGGGTSYNSALK SRLTISKDTSKNQVSLKLSSVTA ADTAVYYCARTGTRGYFFDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP S SKSTSGGT AALGCLVKD YFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ S SGLYSL S SWT VP S S SLGTQT YI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVF SC S VMHEALHNHYTQK SLSLSPGK(서열 번호 193)	VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 194)
ULBP2-AP-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPR WCAVQGQVDEKTFLHYDCGNK TVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQ NPVLREVVDILTEQLRDIQLENY TPKEPLTLQARMSCEQKAEGHS SGS WQF SFDGQIFLLFD SEKRM WTTVHPGARKMKEKWENDKV	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK

[0940]

작제물	사슬 1	사슬 2
	VAMSFHYF SMGDCIGWLEDFL MGMDSTLEPSAGAPLAMAPAP APAPAQVQLQESGPGLVKPSET LSLTCTVSGFSLTNYAINWVRQP PGKGLEWLGIIWTGGGTSYNSA LKSRLTISKDTSKNQVSLKLSSV TAADTAVYYCARTGTRGYFFD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPD VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPEEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVF SC S VM HEA LHNHYT QKSLSLSPGK(서열 번호 195)	VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 196)
α-PDGFRb 1-HC-AP-MICA S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCT VSGF SLTNYAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYNSALKSRL TISKDTSKNQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYFFDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GL YSLS S VVT VPS S SLGTQT YIC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD

[0941]

작제물	사슬 1	사슬 2
	NVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PEEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKAPAPAPAPAEPHSLRY NLTVLSWDGSVQSGFLTEVHLD GQPFLRCDRQKCRAKPQGQWA EDVLGNKTWDRETRDLTGNGK DLRMTLAHIKDQKEGLHSLQEI RVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGEL FLSQNLETKEWTMPQSSRAQTL AMNVRNFLKEDAMKTKTHYHA MHADCLQELRRYLKSGVVLRR TVPPMVNVTRSEASEGNITVTC RASGFYPWNITLSWRQDGVSLS HDTQQWGDVLPDGNGTYQTW VATRICQGEEQRFTCYMEHSGN HSTHPVPSGKVLVLQSHW(서열 번호 197)	YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 198)

[0942]

각제물	사슬 1	사슬 2
MICA-CL-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	EPHSLRYNLTVLSWDGSVQSGF LTEVHLDGQPFLRCDRQKCRAK PQGQWAEDVLGNKTWDRETRD LTGNGKDLRMTLAHIKDQKEGL HSLQEIRVCEIHEDNSTRS SQHF YYDGELFLSQNLETKEWTMPQ S SRAQTLAMNVRNFLKEDAMKT KTHYHAMHADCLQELRRYLKS GVVLRRTVPPMVNVTRSEASEG NITVTCRASGFYPWNITLSWRQ DGVSLSHDTQQWGDVLPDGNG TYQTWVATRICQGEEQRFTCYM EHSGNHSTHPVPSGKVLVLQSH WRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECQV QLQESGPGLVKPSETLSLTCTVS GFSLTNYAINWVRQPPGKGLEW LGIIWTGGGTSYNSALKSRLTIS KDTSKNQVSLKLSSVTAADTAV YYCARTGTRGYFFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPDVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQ YNST YR VVSVLTVLHQD	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 200)

[0943]

작제물	사슬 1	사슬 2
	WLNGKEYKCKVSNKALPAPEE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 199)	
MICB-CL-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSG FLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRA KPQGQWAEDVLGAKTWDTETE DLTENGQDLRRTLTHIKDQKGG LHSLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHF YYDGELFLSQNLETQESTVPQSS RAQTLAMNVTNFWKEDAMKT KTHYRAMQADCLQKLQRYLKS GVAIRRT VPPMVNVTC SE VSEG NIT VTCRAS SF YPRNITLTWRQD GVSLSHNTQQWGDVLPDGNGT YQTWVATRIRQGEEQRFTCYME HSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQR TDRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECQ VQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SGF SLTNYAINWVRQPPGKGLE WLGIIWTGGGTSYNSALKSRLTI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 202)

[0944]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SKDTSKNQVSLKLSSVTAADTA VYYCARTGTRGYFFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG L YSLS S WT VPS S SLGTQT YICN VNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPDVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPE EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK(서열 번호 201)	
ULBP1-CL-HC-α- PDGFRb 1 S239D/I332E	GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQ WCEVQGLVDERPFLHYDCVNH KAKAFASLGKKVNVTKTWEEQ TETLRDVVDFLKGQLLDIQVEN LIPIEPLTLQARMSCEHEAHGHG RGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRK WTALHPGAKKMTEKWEKNRD VTMFFQKISLGDCKMWLEEFLM YWEQMLDPTKPPSLAPRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGECQVQLQESGP	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 204)

[0945]

작제물	사슬 1	사슬 2
	GLVKPSETLSLTCTVSGFSLTNY AINWVRQPPGKGLEWLGIIWTG GGTSYNSALKSRLTISKDTSKNQ VSLKLSSVTAADTAVYYCARTG TRGYFFDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPS S SLGTQT YICNVNHKPSNTK VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPDVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 203)	
ULBP2-CL-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPR WCAVQGQVDEKTFLHYDCGNK TVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQ NPVLREVVDILTEQLRDIQLENY TPKEPL TLQARMSCEQKAEGHS SGS WQF SFDGQIFLLFD SEKRM WTTVHPGARKMKEKWENDKV V AMSFHYF SMGDCIGWLEDFL MGMDSTLEPSAGAPLAMRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQ	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 206)

[0946]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGECQVQLQES GPGLVKPSETLSLTCTVSGFSLT NYAINWVRQPPGKGLEWLGIIW TGGGTSYNSALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADTAVYYCAR TGTRGYFFD YWGQGTL VT VS SA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPDVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPEEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 205)	
MICB-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	AEPHSLRYNLMVLSQDESVQSG FLAEGHLDGQPFLRYDRQKRRA KPQGQWAEDVLGAKTWDTETE DLTENGQDLRRTLTHIKDQKGG LHSLQEIRVCEIHEDSSTRGSRHF YYDGELFLSQNLETQESTVPQSS RAQTLAMNVTNFWKEDAMKT KTHYRAMQADCLQKLQRYLKS	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT

[0947]

각제물	사슬 1	사슬 2
	GVAIRRT VPPMVNVTC SE VSEG NIT VTCRAS SF YPRNITLTWRQD GVSLSHNTQQWGDVLPDGNGT YQTWVATRIRQGEEQRFTCYME HSGNHGTHPVPSGKVLVLQSQR TDQVQLQESGPGLVKPSETLSLT CTVSGF SLTNYAINWVRQPPGK GLEWLGIIWTGGGTSYNSALKS RLTISKDTSKNQVSLKLSSVTAA DTAVYYCARTGTRGYFFDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ S SGLYSL S SWT VP S S SLGTQT YI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APEEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVF SC S VMHEALHNHYTQK SLSLSPGK(서열 번호 207)	EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 208)
ULBP1-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GWVDTHCLCYDFIITPKSRPEPQ WCEVQGLVDERPFLHYDCVNH KAKAFASLGKKVNVTKTWEEQ TETLRDVVDFLKGQLLDIQVEN LIPIEPLTLQARMSCEHEAHGHG RGSWQFLFNGQKFLLFDSNNRK	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL

[0948]

작제물	사슬 1	사슬 2
	WTALHPGAKKMTEKWEKNRD VTMFFQKISLGDCKMWLEEFLM YWEQMLDPTKPPSLAPQVQLQE SGPGLVKPSETLSLTCTVSGFSL TNYAINWVRQPPGKGLEWLGII WTGGGTSYNSALKSRLTISKDT SKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC ARTGTRGYFFDYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPDVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPEEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 209)	KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 210)
ULBP2-HC-α-PDGFRb 1 S239D/I332E	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPR WCAVQGQVDEKTFLHYDCGNK TVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQ NPVLREVVDILTEQLRDIQLENY TPKEPLTLQARMSCEQKAEGHS SGS WQF SFDGQIFLLFD SEKRM WTTVHPGARKMKEKWENDKV V AMSFHYF SMGDCIGWLEDFL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT

[0949]

작제물	사슬 1	사슬 2
	MGMDSTLEP SAGAPL AMQVQL QESGPGLVKPSETLSLTCTVSGF SLTNYAINWVRQPPGKGLEWLG IIWTGGGTSYNSALKSRLTISKD TSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CARTGTRGYFFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL S S VVTVPS S SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPDVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K(서열 번호 211)	EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 212)
ULBP2-HC-α-PDGFRb 1 L234A/L235A	GRADPHSLCYDITVIPKFRPGPR WCAVQGQVDEKTFLHYDCGNK TVTPVSPLGKKLNVTTAWKAQ NPVLREVVDILTEQLRDIQLENY TPKEPL TLQARMSCEQKAEGHS SGS WQF SFDGQIFLLFD SEKRM WTTVHPGARKMKEKWENDKV VAMSFHYF SMGDCIGWLEDFL MGMDSTLEPSAGAPLAMQVQL QESGPGLVKPSETLSLTCTVSGF	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTI TCHASQNINVWLSWYQQKP GKAPKLLIYKASNLHTGVPSR FSGSGSGTGFTLTISSLQPEDI ATYYCQQGQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD

[0950]

작제물	사슬 1	사슬 2
	SLTNYAINWVRQPPGKGLEWLG IIWTGGGTSYNSALKSRLTISKD TSKNQVSLKLSSVTAADTAVYY CARTGTRGYFFDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL S S VVTVPS S SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(서열 번호 213)	YEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC(서열 번호 214)

[0951]

[0952] NKp46 신호전달의 활성화가 또한 활성화된 HSC에 대한 ADCC 세포독성을 향상시킬 수 있었다. NKp46은 NK 세포 상에서 발현되는 다른 활성화 수용체이다. 항-PDGFRb 항체의 중쇄의 C-말단에 대한 항-NKp46 효능제 항체의 융합에 의한 이중특이성 항체를 설계하였다. 이의 예시적인 작제물이 하기 표 8에 나타나 있다. Fc 돌연변이(이펙터 기능을 향상시키기 위한 S239D/I332E, 또는 이펙터 기능을 소실시키기 위한 N297S)를 이중특이성 항체 내로 도입하였다. 이들 항체를 발현시키고, 정제하고, 시험관내 ADCC 세포독성 검정에서 평가하였다. **도 10**에 나타낸 바와 같이, 항-PDGFRb 항체에 대한 항-NKp46 효능제 항체의 융합은 TGFb1-활성화된 인간 HSC 세포에 대한 ADCC 세포독성을 유의하게 향상시켰다. 이러한 효과는 Fc 이펙터 기능이 N297S 돌연변이에 의해 침묵되었을 때 더 명백하였다.

[0953] [표 8]

예시적인 α-PDGFRb 1-α-NKp46 1 융합 작제물의 전장 서열

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
a-PDGFRb 1 -α-NKp46 N297S	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGFSLTN YAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYF FD YWGQGTL VT VS S ASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPRE EQYSSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVL D SDGSFFL YSKLT VD KSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGSTGSQVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVS	DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCHAS QNINVWLSWYQQ KPGKAPKLLIYKA SNLHTGVPSRFSG SGSGTGFTLTISSL QPEDIATYYCQQ GQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECE PKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKP REEQYSSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRASQD ISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSRLH SGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDIA TYFCQQGNTRPWT FGGGTKVEIKASTK GPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSS SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKV(서열 번호 217)

[0954]

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
	CKASGYTFTDYVIN WGRQAPGQGLEWIG EIYPGSGTNYYNEKF KAKATITADKSTSTA YMELS SLRSEDTAVY FCARRGRYGLYAMD YWGQGTTVTVSSRT VAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSK DSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGE C(서열 번호 215)	FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK(서열 번호 216)	
a-PDGFRb 1 -α-NKp46 S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGFSLTN YAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYF FD YWGQGTL VT VS S ASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELL GGPDVFLFPPKPKDT	DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCHAS QNINVWLSWYQQ KPGKAPKLLIYKA SNLHTGVPSRFSG SGSGTGFTLTISSL QPEDIATYYCQQ GQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECE	DIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRASQD ISNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSRLH SGVPSRFSGSGSGT DFTFTISSLQPEDIA TYFCQQGNTRPWT FGGGTKVEIKASTK GPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSS SLGTQT YICNVNHK PSNTKVDKKV(서열 번호 220)

[0955]

[0956]

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
	LMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQK SLSLSPGSTGSQVQL VQSGAEVKKPGSSV KVSCKASGYTFTDY VINWGRQAPGQGLE WIGEIYPGSGTNYYN EKFKAKATITADKST ST AYMELS SLRSEDT AVYFCARRGRYGLY AMDYWGQGTTVTV SSRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSF NRGEC(서열 번호 218)	PKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPDVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKA LPAPEEKTISKAK GQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK(서열 번호 219)	

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
α-PDGFRb 1 - NA N297S	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGFSLTN YAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYF FD YWGQGTL VT VS S ASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPRE EQYSSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVL D SDGSFFL YSKLT VD KSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSL SLSPGK(서열 번호 221)	DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCHAS QNINVWLSWYQQ KPGKAPKLLIYKA SNLHTGVPSRFSG SGSGTGFTLTISSL QPEDIATYYCQQ GQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECE PKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKP REEQYSSTYRVVS VLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSF	

[0957]

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
		FLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK(서열 번호 222)	
α-PDGFRb 1 - NA S239D/I332E	QVQLQESGPGLVKPS ETLSLTCTVSGFSLTN YAINWVRQPPGKGL EWLGIIWTGGGTSYN SALKSRLTISKDTSK NQVSLKLSSVTAADT AVYYCARTGTRGYF FD YWGQGTL VT VS S ASTKGPSVFPLAPSS KSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELL GGPDVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPEEKTI SKAKGQPREPQVYTL	DIQMTQSPSSLSA SVGDRVTITCHAS QNINVWLSWYQQ KPGKAPKLLIYKA SNLHTGVPSRFSG SGSGTGFTLTISSL QPEDIATYYCQQ GQSFPFTFGGGTK VEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGECE PKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPDVFL FPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVV	

[0958]

작제물	사슬 1	사슬 2	사슬 3
	PPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK(서열 번호 223)	SVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKA LPAPEEKTISKAK GQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSPGK(서열 번호 224)	

[0959]

[0960] aHSC는 억제성 면역 관문 수용체에 대해 다수의 리간드를 발현시킴으로써 간에서의 NK 세포의 활성을 억제한다. 이들 리간드와 이들의 억제성 면역 관문 수용체 사이의 상호작용을 차단하는 것은 NK 세포 활성을 조절하는 다른 방법이다. **도 11a** 및 **도 11b**에 나타낸 바와 같이, CD155(TIGIT에 대한 리간드) 및 CD112(PVRIG에 대한 리간드)는 2 ng/ml의 TGFb1 처리 하에서 또는 이의 부재 하에서 두 경우 모두에서 인간 HSC 세포 상에서 고도로

발현되었다. TGFb1-활성화된 HSC 세포를 칼세인-AM 형광 염료로 표지하였다. ADCC 세포독성을 배양 배지로 방출된 Calcei-AM의 수준에 의해 측정하였다. α-TIGIT 1 IgG1 항체에 의해 CD155와 TIGIT 사이의 상호작용을 차단하거나 α-PVRIG 1 IgG4에 의해 CD112와 PVRIG 사이의 상호작용을 차단함으로써 활성화된 HSC 세포에 대한 NK 세포의 기저선 ADCC 세포독성 활성을 유의하게 증가시켰다(**도 11c**). 중요한 점은, 소정 범위 농도의 α-PDGFRb 1 S239D/I332E와 조합된 3 ug/ml의 α-TIGIT 1 IgG1은 α-PDGFRb 1 S239D/I332E의 단독 처리보다 aHSC에 대해 더 많은 ADCC 세포독성을 유도하였다는 것이다(**도 11d**).

[0961] TGFb는 면역 억제 사이토카인이다. 이것은 면역 세포의 세포독성 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다. TGFb는 이의 수용체에 대해 높은 결합 친화도를 갖는다. 가용성 TGFb 수용체 II ECD(TRII)는 TGFb 신호전달을 차단하기 위해 유인(decoy) 수용체로서 사용되어 왔다. TGFb의 면역 억제 기능을 차단하기 위해, 항-인간 PDGFRb 항체의 중쇄 C-말단에 대한 TRII의 융합에 의해 이중특이성 항체를 설계하였다. 예시적인 작제물이 표 7에 나타나 있다. 이 이중특이성 항체를 항-PDGFRb 항체 단독과 함께 시험관내 ADCC 세포독성 검정에서 시험하였다. 인간 1차 HSC를 24시간 동안 hTGFb1에 의해 활성화시켰다. ADCC 검정 당일에, 활성화된 HSC 세포를 수집하고, RPMI 1640 배지 중에서 1차 NK 세포와 공동배양하였다. ADCC 검정 과정 동안 TGFb1은 배양 배지 중에 포함되지 않았다. TRII를 갖는 항-PDGFRb 항체 처리군과 항-PDGFRb 항체 단독 처리군 사이에 ADCC 세포독성의 유의한 차이가 관찰되지 않았다(**도 12a**).

[0962] 시험관내 ADCC 검정에서 유의한 차이가 관찰되지 않았을지라도, 항-마우스 PDGFRb 항체 연결된 TRII 처리군과 항-마우스 PDGFRb 항체군 사이에 차등적인 생체내 효과가 관찰되었다. 항-마우스 PDGFRb 항체-TRII 이중특이체의 생체내 활성을 CCL4-처리된 마우스 모델에서 평가하였다. 수컷 야생형 C57BL/6J 마우스를 3주 동안 CCL4로 처리하여 HSC 세포 활성화를 유도하였다. 이어서, 이들 마우스에게 추가 4주 동안 CCL4 주사와 함께, 45 mg/kg의 항-mPDGFRb 항체-TRII 이중특이체(1B3-TRII S239D/I332E)(i.v., 4주 동안 주 2회, 총 8회 용량), 항-mPDGFRb 항체(1B3 S239D/I332E)(i.v., 4주 동안 주 1회, 총 4회 용량)를 제공하였다. 이펙터 기능을 향상시키기 위해 항체 내로 Fc 돌연변이 S239D/I332E를 조작하였다. mIgG2a 동종형 대조 항체 연결된 TRII 이중특이성 항체군(ISO-TRII)(i.v., 4주 동안 주 1회, 총 4회 용량)을 또한 본 연구에 포함시켰다. 항체 처리 시작 후 일수 9 및 일수 27에서 혈청 샘플을 수집하였다. 연구 종료 시점에서 간 샘플을 수집하고, 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 RIPA 용해 완충액 중에서 균질화하였다. 원심분리 후에, 상층액을 간 용해물로서 수집하였다. 간 용해물 중의 총 PDGFRb 수준을 샌드위치 ELISA에 의해 측정하였다. 항-PDGFRb 항체(abcam Ab32570)를 포획 항체로서 사용하였다. 1B3 mIgG2a를 검출 항체로서 사용하였다. 혈청 중의 항체 수준을 코팅 항원으로서의 마우스 PDGFRb 및 검출 항체로서의 항-TRII 항체와 함께 직접 ELISA를 사용하여 결정하였다. **도 12b**에 나타낸 바와 같이, 혈청 항체 수준은 1B3-TRII S239D/I332 처리군과 1B3 S239D/I332E 처리군 사이에서 비견되었다. 활성화된 HSC 고갈의 지표로서, 간의 총 PDGFRb 수준이 두 처리군 모두에 의해 유의하게 감소되었다(**도 12c**). 1B3-TRII S239D/I332E 처리는 1B3 S239D/I332E 처리보다 더 많은 총 PDGFRb 감소를 야기하였다. 이들 결과는 TGFb 신호전달을 차단함으로써 간에서 활성화된 HSC 세포의 항체-매개 고갈을 추가로 향상시킬 수 있었음을 입증하였다.

[0963] 이들 결과는 면역 세포 활성화 신호전달을 촉진하거나 면역 세포 억제성 신호전달을 억제하여 면역 세포 활성을 조절함으로써 항체-매개 세포독성을 추가로 향상시켜, 활성화된 HSC를 시험관내에서 그리고 생체내에서 효과적으로 고갈시킬 수 있음을 추가로 확인시켜 주었다.

[0964] **7.5.실시예 5: 간에서의 활성화된 HSC의 고갈은 생체내에서의 HSC 마커 및 NK 활성화 마커의 변화와 관련되어 있었다**

[0965] 수컷 야생형 C57BL/6J 마우스를 3주 동안 CCL4(0.7 ml/kg, i.p. 주사, 주 3회)로 처리하여 HSC 세포 활성화를 유도하였다. 이어서, 이들 마우스에게 45 mg/kg의 항-mPDGFRb 항체 1B3 S239D/I332E(I.V.), 15 mg/kg의 항-mPDGFRb 항체 1B3 S239D/I332E(S.C.), 또는 5 mg/kg의 항-mPDGFRb 항체 1B3 S239D/I332E(S.C.)와 함께 CCL4가 제공되었다. 항체 투여 시작 후 4, 48 및 168시간 시점에서 간 샘플을 수집하였다. 간의 절반은 단백질 또는 mRNA 추출에 사용하였고, 간의 나머지 절반은 병리 연구에 사용하였다.

[0966] 생체내 HSC 고갈과 관련된 마커 변화를 조사하기 위해, 다수의 HSC 마커를 연구하였다. **도 13a**에 나타낸 바와 같이, 1B3 S239D/I332E 처리는 ELISA에 의해 측정된 바와 같이 간의 총 PDGFRb 수준을 시간 의존적으로 감소시켰다. 3개의 모든 투여군은 항체 투여 후 4시간 및 48시간 시점에서 PDGFRb의 유의한 감소를 유도하였다. 단지 45 mg/kg 군만이 항체 투여 후 168시간 시점에서 간 PDGFRb 수준을 감소시켰는데, 이는 항체 혈청 PK와 일치한다. 활성화된 HSC 마커 aSMA의 단백질 수준은 항체 투여 후 4시간 및 48시간 시점에서 5 mg/kg의 1B3

S239D/I332E 군에 의해 가장 유의하게 감소되었다(**도 13b**). 정량적 RT-PCR의 사용에 따르면, 투여 후 4시간 시점에서 5 mg/kg 및 45 mg/kg의 1B3 S239D/I332E 군에 의해 aSMA mRNA 수준이 또한 유의하게 감소되었다(**도 13c**). (정지성(quiescent) HSC 및 활성화된 HSC 둘 모두 상에서 발현된) Pan HSC 마커, 예컨대 GFAP, Desmin 및 LRAT는 mRNA 수준에서 항체 처리에 의해 유의하게 변화되지 않았다(**도 13d 내지 도 13f**).

[0967] 면역 세포 및 NK 세포 활성화 마커를 또한 연구하였다. **도 14a** 및 **도 14b**에 나타낸 바와 같이, 1B3 S239D/I332E 처리는 항체 투여 후 48시간 시점에서 NK 마커, 즉, NKG2D 및 NKp46의 mRNA 수준을 증가시켰다. 면역 세포 활성화 마커 그랜자임 B mRNA 수준이 또한 항체 투여 후 48시간 시점에서 유의하게 증가되었다(**도 14c**). IHC의 사용에 따르면, 1B3 S239D/I332E 처리는 항체 투여 시작 후 4시간 및 168시간 시점에서 간에서 % 그랜자임 B 강양성 세포를 유의하게 증가시켰다. 5 mg/kg의 1B3 S239D/I332E에 의한 증가된 %그랜자임 B 강양성 세포의 경향이 또한 48시간 시점에서 관찰되었다. 절단된 카스파제 3 IHC에 의해 정량화된 간에서의 % 아폽토시스 세포는 투여 시작 후 4시간 시점에서 5 mg/kg 및 45 mg/kg의 1B3 S239D/I332E에 의해 감소되었고, 48시간 시점에서 5 mg/kg의 1B3 S239D/I332E에 의해 증가되었다. % 그랜자임 B 강양성 세포와 % 절단된 카스파제 3 양성 세포 사이에 우수한 상관관계가 있었는데, 이는, 1B3 S239D/I332E가 간에서 면역 세포를 활성화하여 HSC 살해 효과를 발휘시켰음을 시사한다.

[0968] **7.6.실시예 6: 활성화된 HSC의 고갈은 간 섬유증을 감소시킨다**

[0969] 활성화된 HSC의 고갈이 간 섬유증을 감소시킬 수 있는지의 여부를 CCL4-처리된 마우스에서 항-mPDGFRb 항체의 다회 용량 연구에서 평가하였다. 수컷 야생형 C57BL/6J 마우스를 3주 동안 CCL4(0.7 ml/kg, i.p. 주사, 주 3회)로 처리하여 HSC 세포 활성화를 유도하였다. 이어서, 이들 마우스에게 추가 4주 동안 CCL4 주사와 함께, 45 mg/kg의 항-mPDGFRb 항체-TRII 이중특이체(1B3-TRII S239D/I332E, 1B3-TRII L234A/L235A)(i.v., 4주 동안 주 2회, 총 8회 용량), 항-mPDGFRb 항체(1B3 S239D/I332E, 1B3 WT)(i.v., 4주 동안 주 1회, 총 4회 용량)를 제공하였다. 이펙터 기능을 향상시키기 위해 항체 내로 Fc 돌연변이 S239D/I332E를 조작하였다. 이펙터 기능을 소실시키기 위해 항체 내로 Fc 돌연변이 L234A/L235A를 조작하였다. mIgG2a 동종형 대조 항체 연결된 TRII 이중특이체군(ISO-TRII)(i.v., 4주 동안 주 1회, 총 4회 용량)을 또한 본 연구에 포함시켰다. 연구 종료 시점에서 간 샘플을 수집하고, 샘플의 절반을 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 RIPA 용해 완충액 중에서 균질화하였다. 간 용해물 중의 총 PDGFRb 수준을 활성화된 HSC 세포의 생체내 고갈의 지표로서 ELISA에 의해 측정하였다. 나머지 간 샘플을 사용하여 FFPE 조직 블록을 생성하였다. 간 절편을 Sirius Red 염료(SR)로 염색하여 간 섬유증의 정도를 결정하였다. SR 염색 강도 및 염색 면적을 이미지 소프트웨어 HALO에 의해 정량화하였다.

[0970] **도 12c**에 나타낸 바와 같이, 총 PDGFRb 단백질 수준으로서 나타낸 활성화된 HSC의 고갈이 정상 또는 향상된 이펙터 기능을 갖는 항체의 처리군(1B3 TRII S239D/I332E, 1B3 S239D/I332E 및 1B3 WT)에서 관찰하였다. 아주 흥미롭게도, 간 섬유증(% SR 면적으로서 정량화된 바와 같음)은 1B3 TRII S239D/I332E 및 1B3 S239D/I332E 처리에 의해서만 단지 유의하게 감소되었다(**도 15a**). 1B3 WT 처리는 총 PDGFRb 수준은 감소시켰지만, 이는 간 섬유증 진행을 억제할 수 없었다. 1B3 TRII L234A/L235A 처리는 총 PDGFRb 단백질 수준 및 간 섬유증에 영향을 미치지 않았다. SR 염색에 의해 측정된 바와 같이 총 PDGFRb 단백질 수준과 간 섬유증 사이의 유의한 상관관계가 관찰되었다(**도 15b**). 이들 결과는 활성화된 HSC의 고갈이 생체내에서 간 섬유증을 효율적으로 감소시킬 수 있음을 시사하였다. 예를 들어 Fc 돌연변이에 의한 향상된 이펙터 기능이 HSC-표적화 항체가 간 섬유증을 갖는 질병에 대해 치료적 효과를 발휘하는 데 필요하였다.

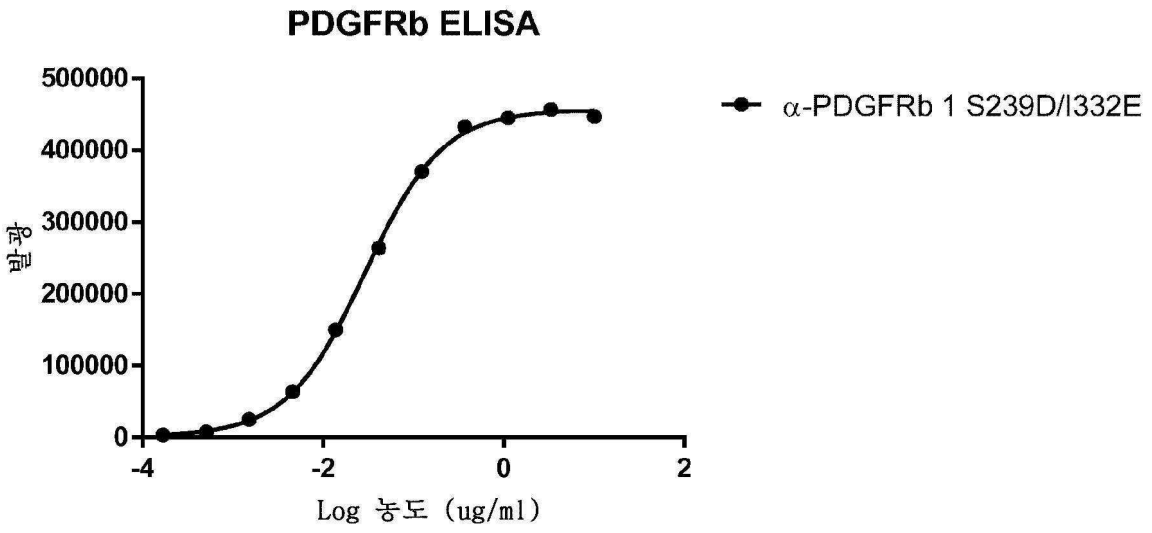
[0971] 항-mPDGFRb 항체의 효과를 콜린-결핍 L-아미노산 고지방 식이(CDAA 식이)-처리된 마우스에서 추가로 평가하였다. 수컷 야생형 C57BL/6J 마우스에게 6주 동안 45 mg/kg의 1B3 S239D/I332E 또는 45 mg/kg의 1B3 WT(I.V., 주 1회)와 함께 CDAA 식이(콜린 결핍, 0.1% 메티오닌, 1% 콜레스테롤, 45% 고지방 식이)를 제공하였다. PBS를 대조군으로서 사용하였다. 항체 투여 시작 후 일수 23 및 일수 42에서 혈청 샘플을 수집하였다. 연구 종료 시점에서 간 샘플을 수집하고, 간의 절반을 프로테아제 및 포스파타제 억제제가 보충된 RIPA 용해 완충액 중에서 균질화하였다. 간 용해물 중의 총 PDGFRb 수준을 활성화된 HSC 세포의 생체내 고갈의 지표로서 ELISA에 의해 측정하였다. 간의 나머지 절반을 사용하여 FFPE 조직 블록을 생성하였다. 간 절편을 Sirius Red 염료(SR)로 염색하여 간 섬유증의 정도를 결정하였다. SR 염색 강도 및 염색 면적을 이미지 소프트웨어 HALO에 의해 정량화하였다.

[0972] **도 16a** 및 **도 16b**에 나타낸 바와 같이, 1B3 WT 군은 일수 23 및 일수 42 두 시점 모두에서 1B3 S239D/I332E 군과 대비하여 더 높은 혈청 항체 농도를 가졌다. 6주간의 항체 투여 후에, 1B3 S239D/I332E 및 1B3 WT 처리 둘 모두는 ADVIA 2400 Chemistry System에 의해 측정된 혈청 ALT/AST 수준을 유의하게 감소시켰다(**도 17b** 및 **도**

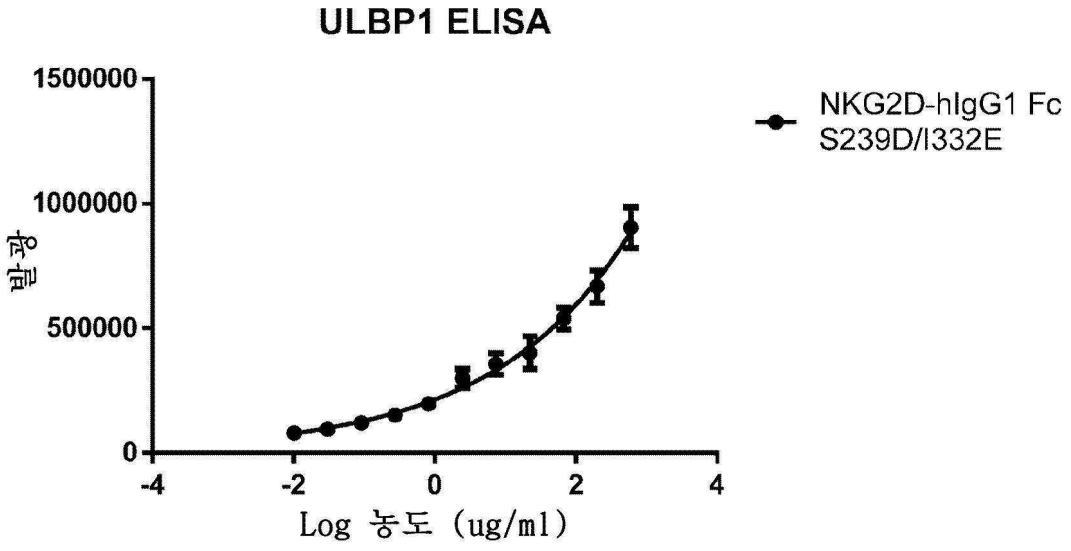
17c). 간 샘플 분석은 1B3 S239D/I332E 및 1B3 WT 처리 둘 모두가 간의 총 PDGFRb 단백질 수준(도 17a) 및 간에서의 % 지질 소적(lipid droplet)(도 17d)을 유의하게 감소시켰음을 보여주었다. 흥미롭게도, 단지 1B3 S239D/I332E 처리만이 간에서의 % SR 양성 면적에 의해 측정된 바와 같이 간 섬유증을 유의하게 감소시켰다(도 17e). 이는 CCL4-처리된 동물 연구로부터의 조사결과와 일치한다(도 15a). 향상된 이펙터 기능을 갖는 Fc가 aHSC-표적화 항체의 항-섬유증 효과에 요구되었다.

도면

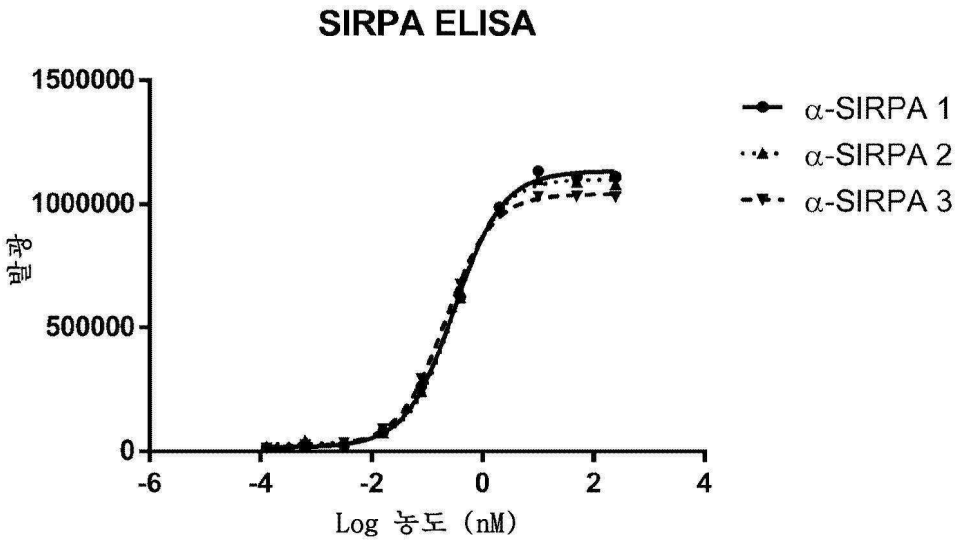
도면1a



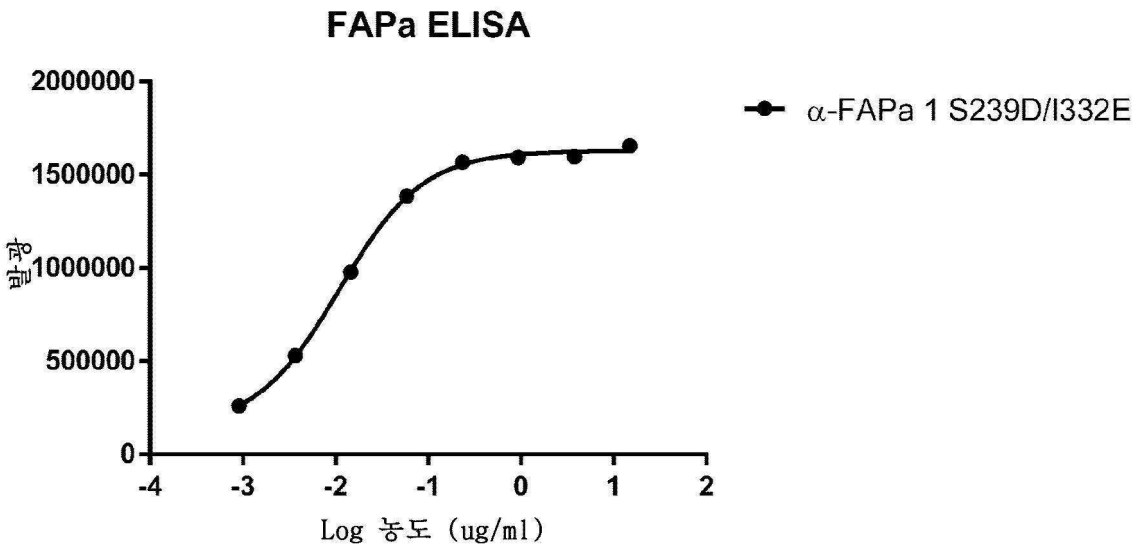
도면1b



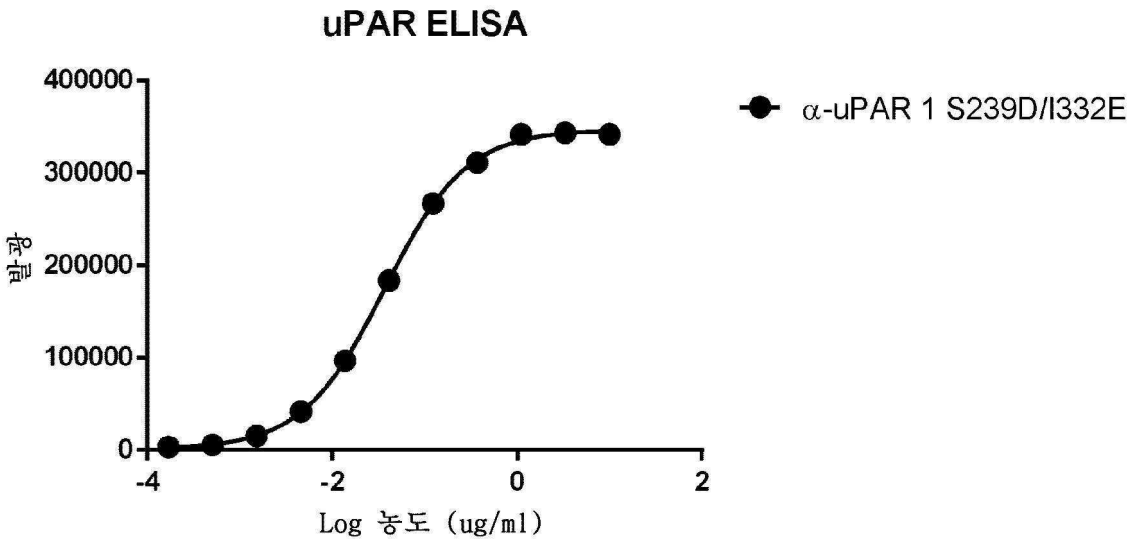
도면1c


SIRPA ELISA
1500000
1000000
500000
0
발광
-6
-4
-2
0
2
4
Log 농도 (nM)
α-SIRPA 1
α-SIRPA 2
α-SIRPA 3

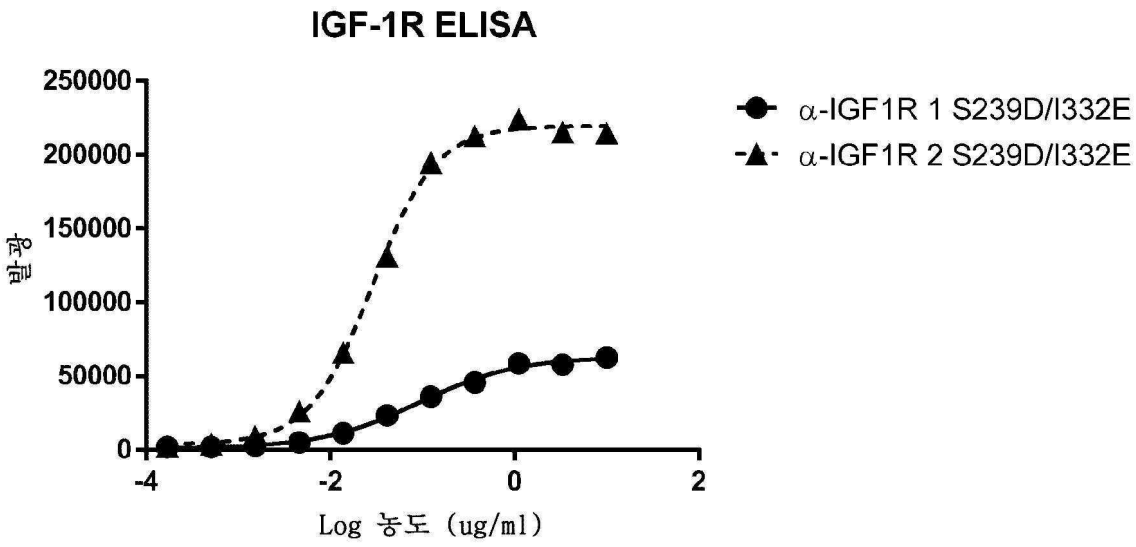
도면1d


FAPa ELISA
2000000
1500000
1000000
500000
0
발광
-4
-3
-2
-1
0
1
2
Log 농도 (ug/ml)
α-FAPa 1 S239D/I332E

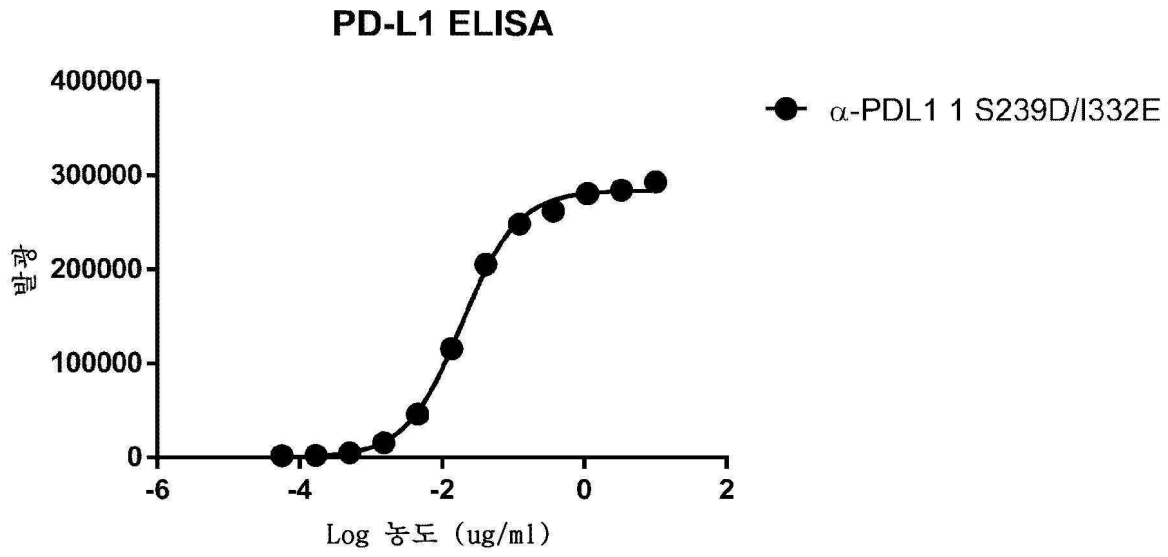
도면1e


uPAR ELISA
400000
300000
200000
100000
0
발광
-4
-2
0
2
Log 농도 (ug/ml)
α-uPAR 1 S239D/I332E

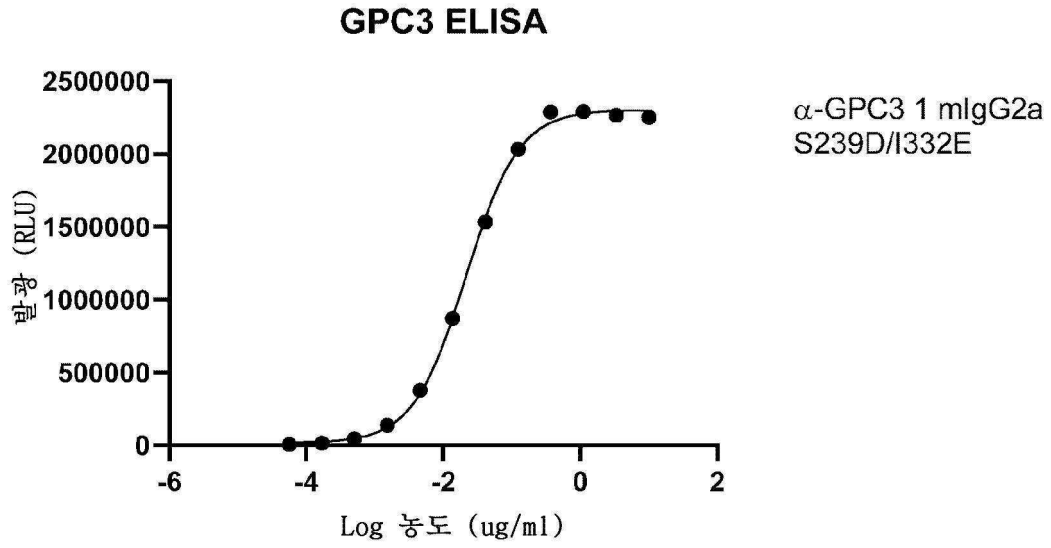
도면1f


IGF-1R ELISA
250000
200000
150000
100000
50000
0
발광
-4
-2
0
2
Log 농도 (ug/ml)
α-IGF1R 1 S239D/I332E
α-IGF1R 2 S239D/I332E

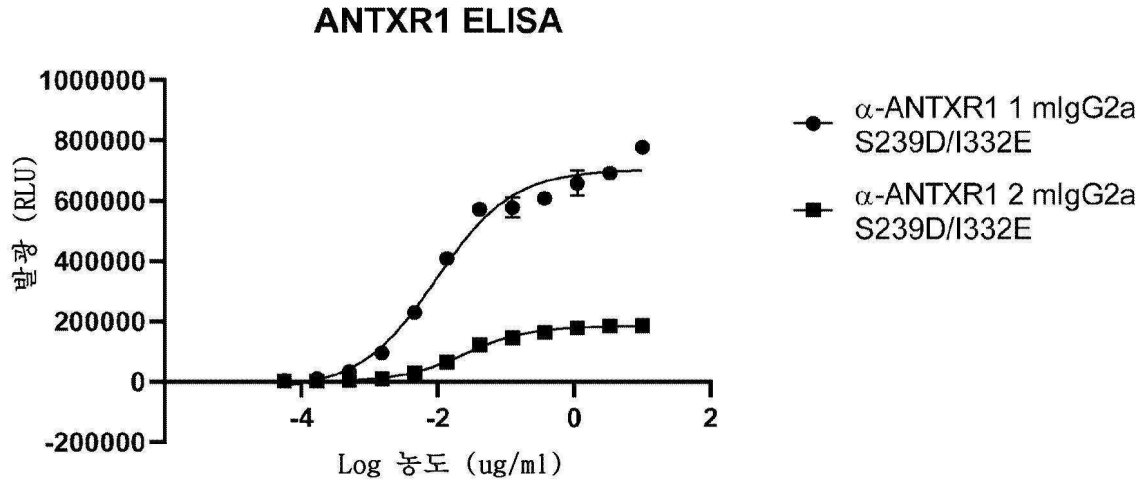
도면1g



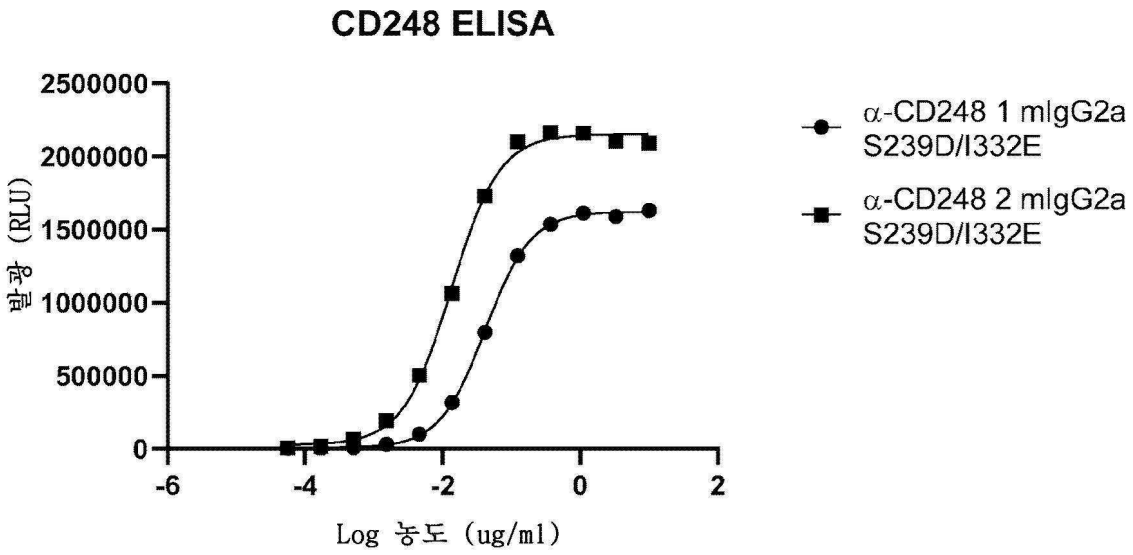
도면1h



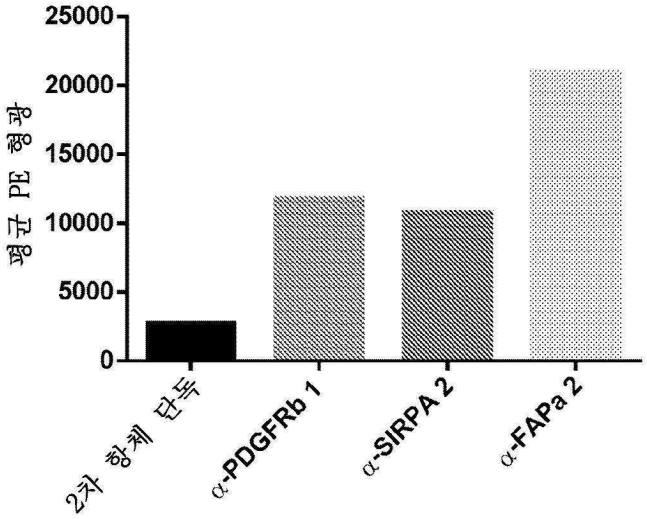
도면1i



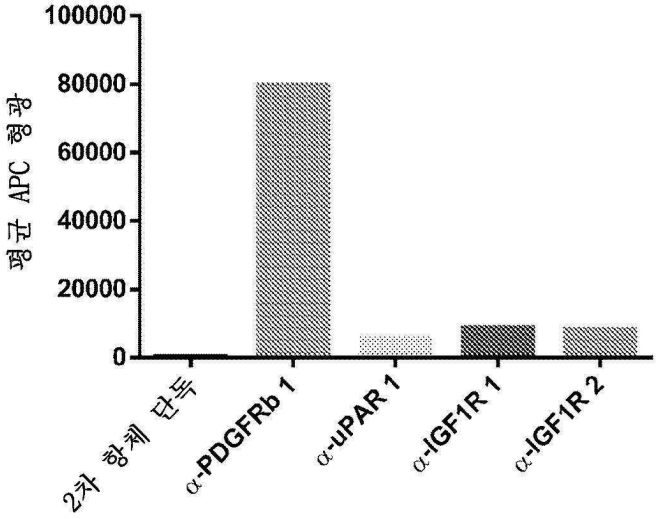
도면1j



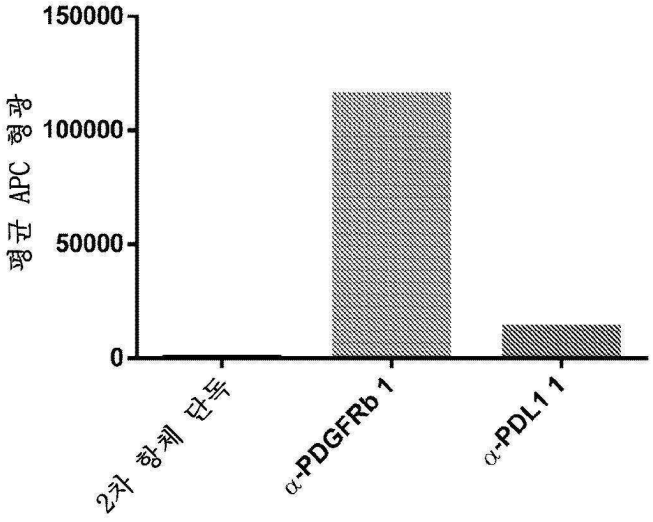
도면2a



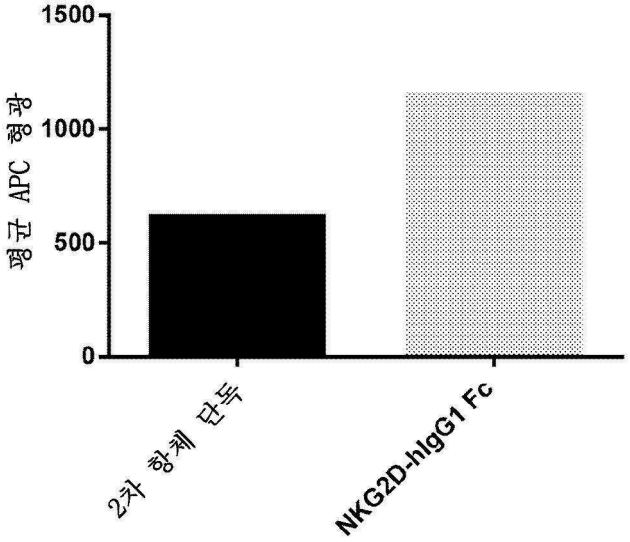
도면2b



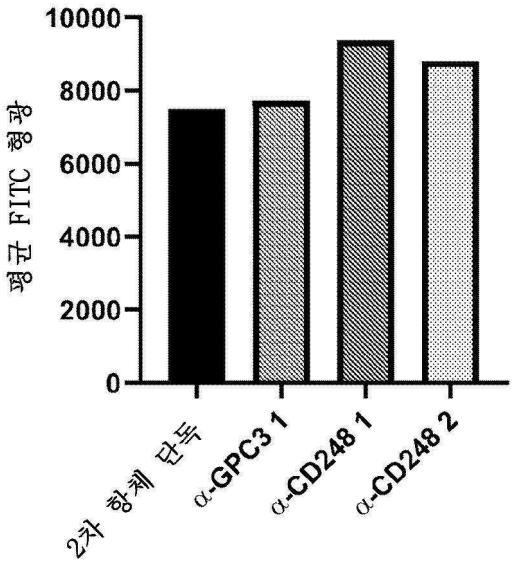
도면2c


150000
100000
50000
0
평균 APC 형광
2차 항체 단독
α-PDGFRb 1
α-PDL1 1

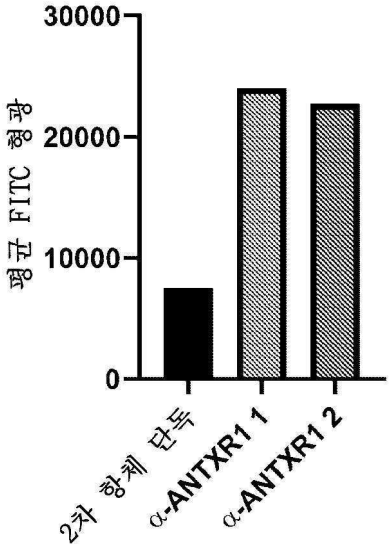
도면2d


1500
1000
500
0
평균 APC 형광
2차 항체 단독
NKG2D-hIgG1 Fc

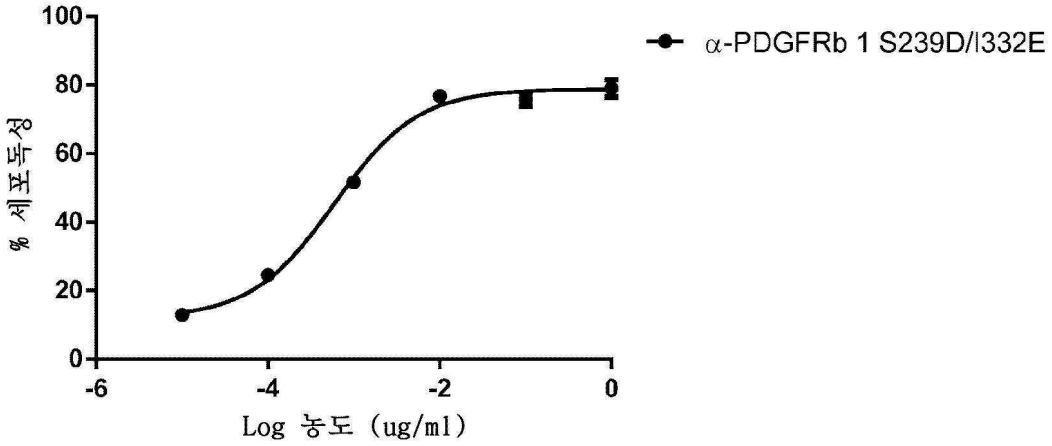
도면2e



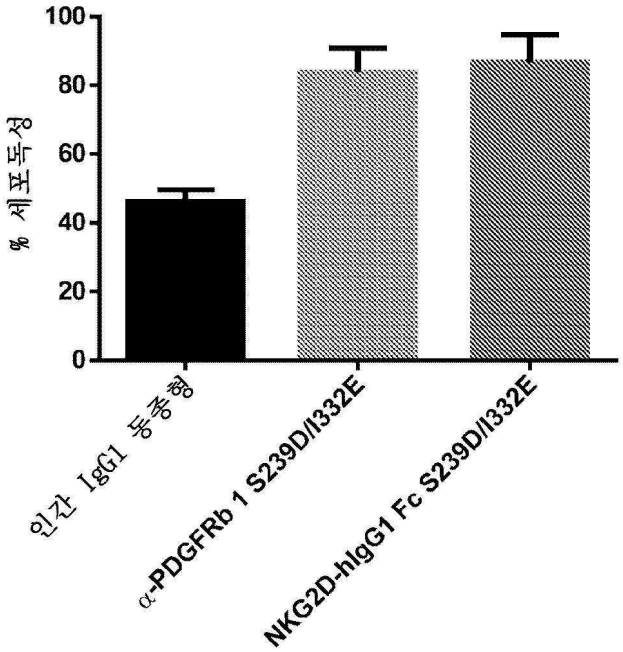
도면2f



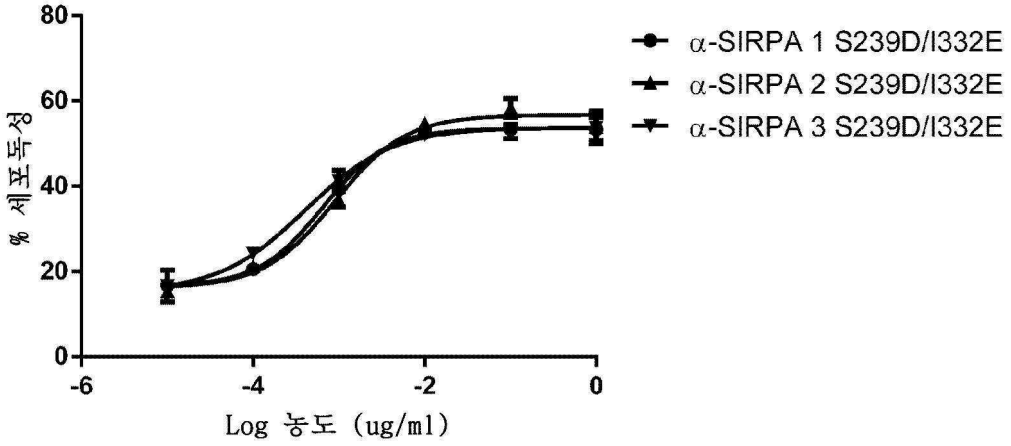
도면3a



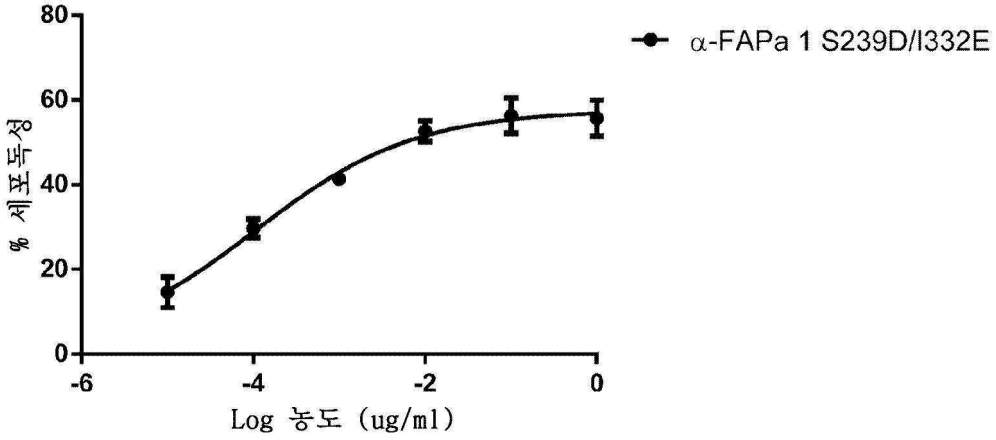
도면3b



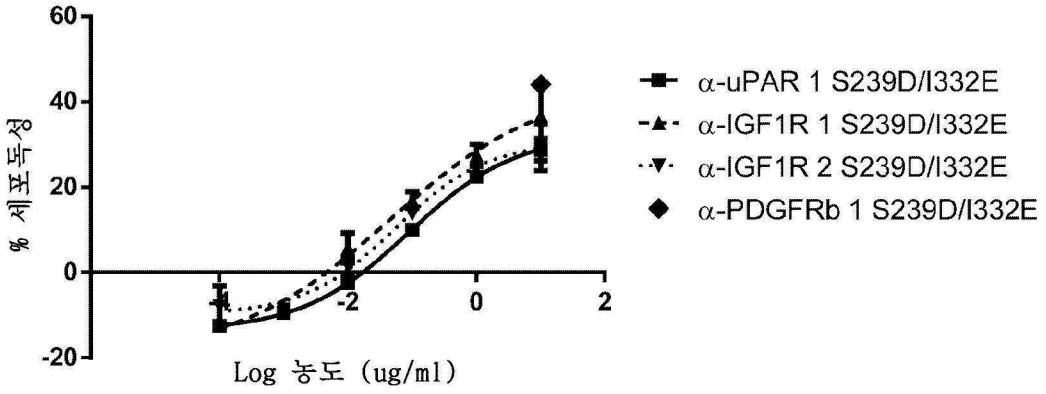
도면3c



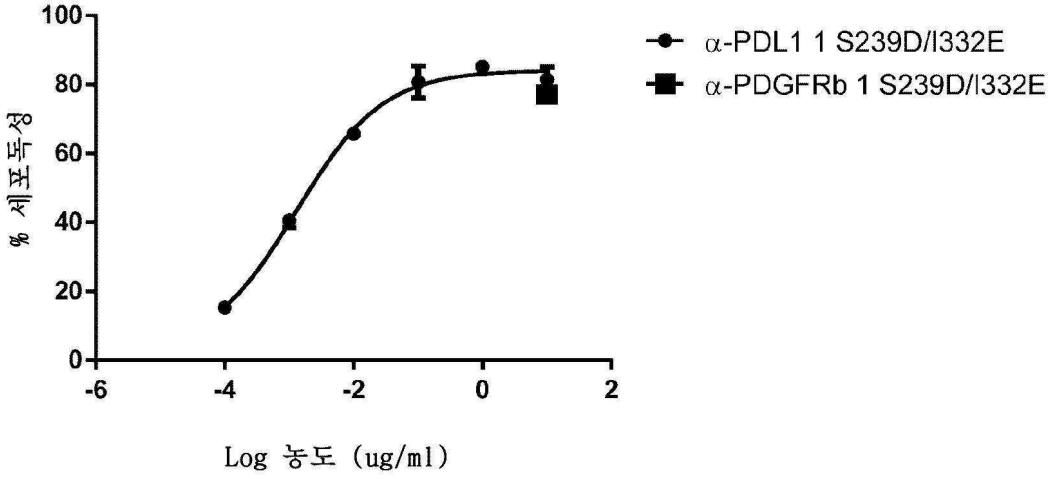
도면3d



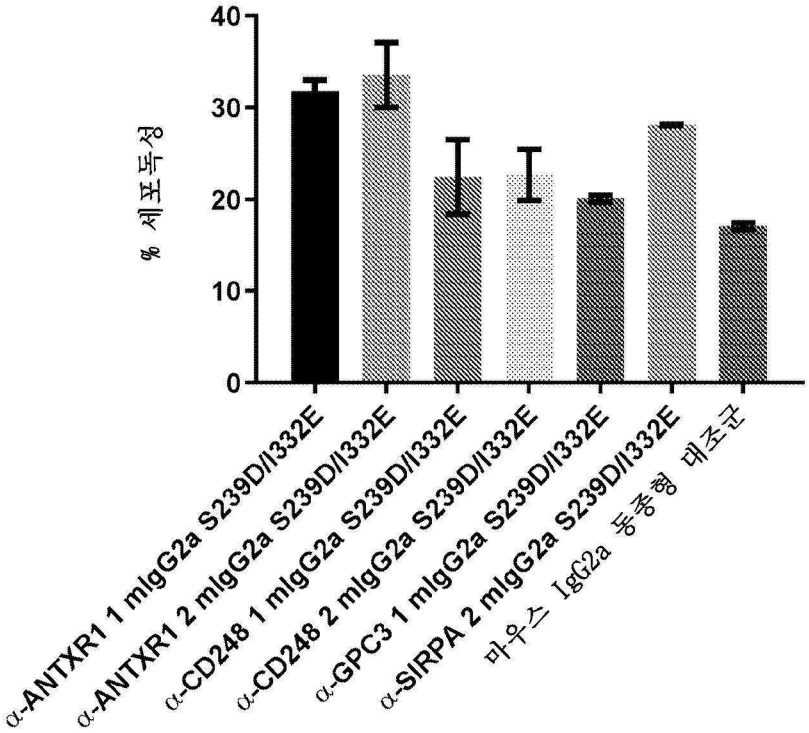
도면3e


60
40
20
0
-20
% 세포독성
-4
-2
0
2
Log 농도 (ug/ml)
α-uPAR 1 S239D/I332E
α-IGF1R 1 S239D/I332E
α-IGF1R 2 S239D/I332E
α-PDGFRb 1 S239D/I332E

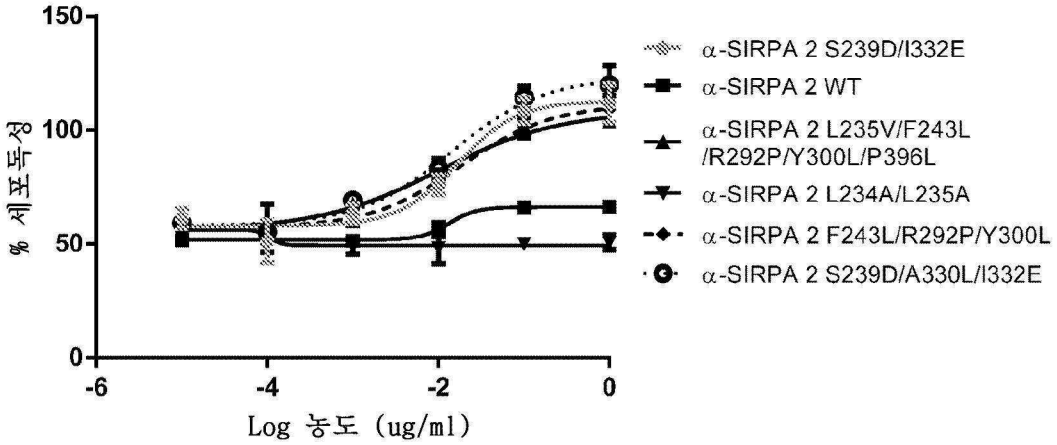
도면3f


100
80
60
40
20
0
% 세포독성
-6
-4
-2
0
2
Log 농도 (ug/ml)
α-PDL1 1 S239D/I332E
α-PDGFRb 1 S239D/I332E

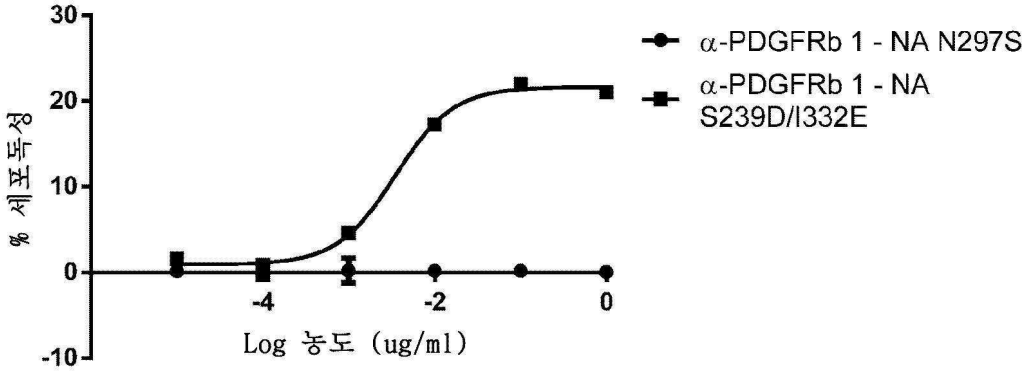
도면3g



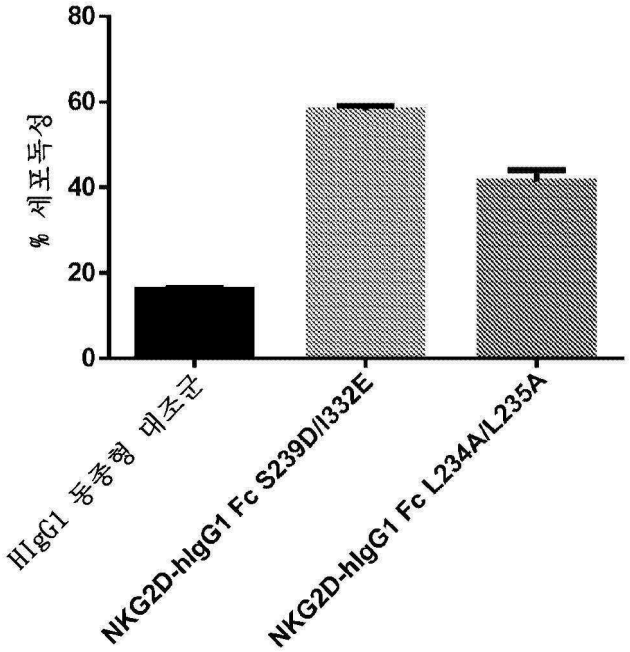
도면4a



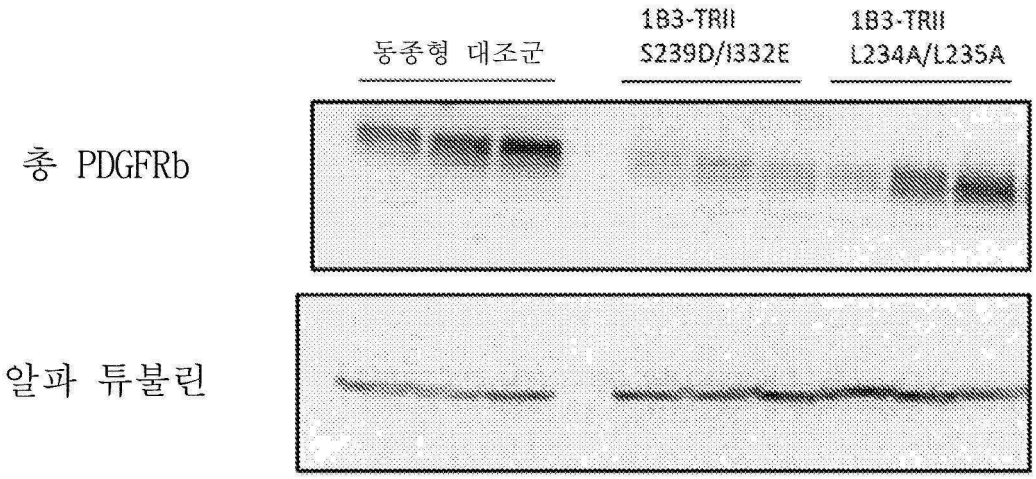
도면4b



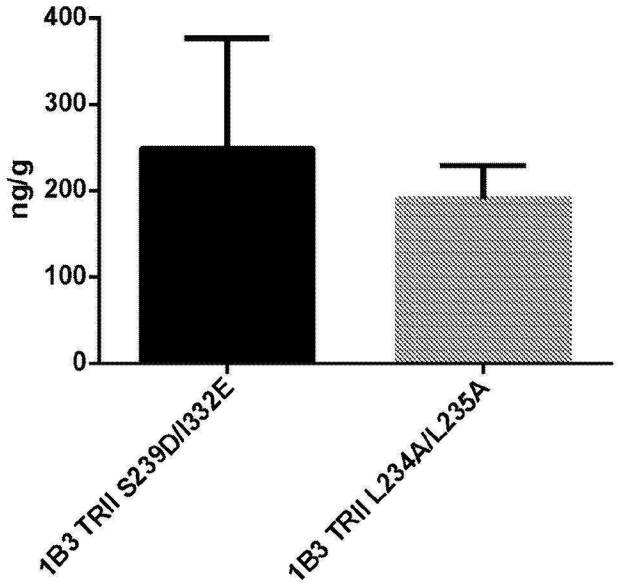
도면4c


80
60
40
20
0
% 세포독성
HIgG1 동종형 대조군
NKG2D-hIgG1 Fc S239D/I332E
NKG2D-hIgG1 Fc L234A/L235A

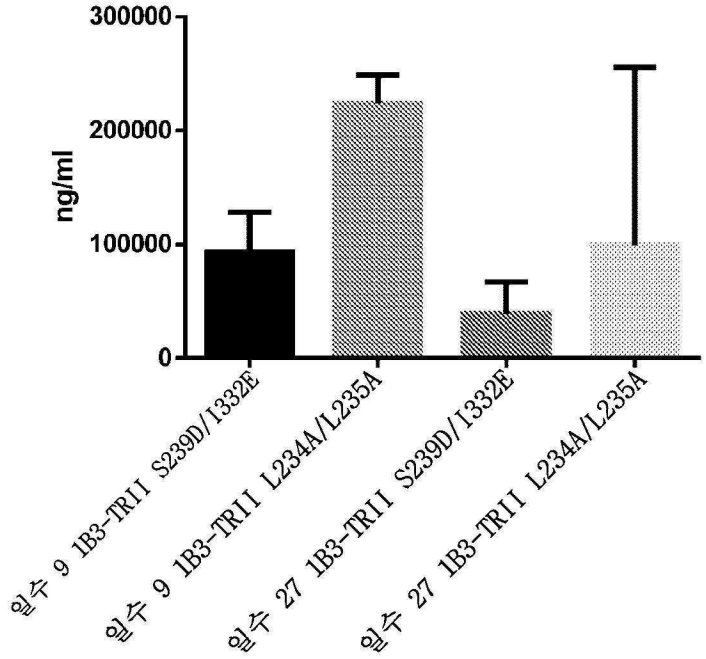
도면5


동종형 대조군
1B3-TRII S239D/I332E
1B3-TRII L234A/L235A
총 PDGFRb
알파 튜불린

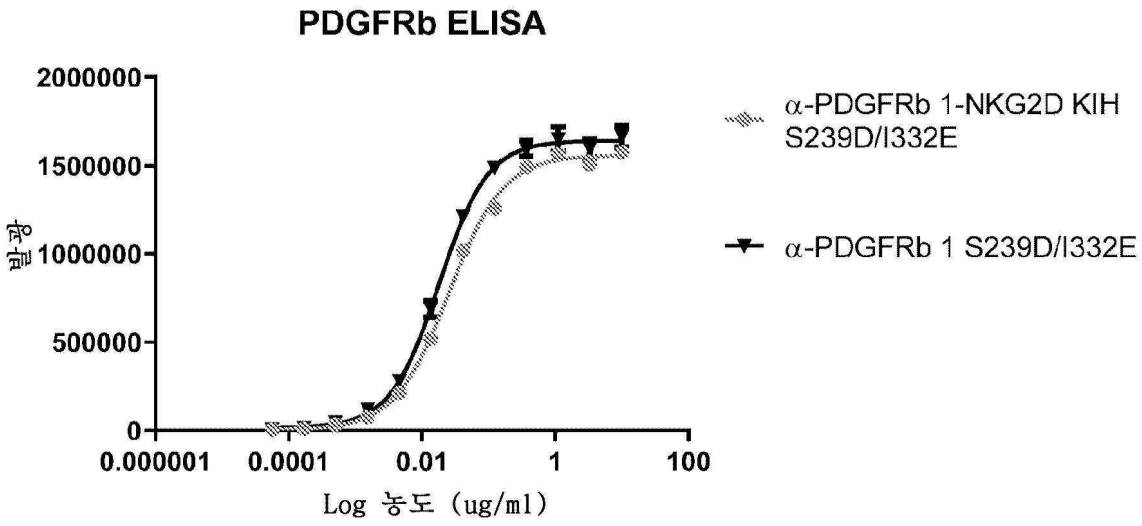
도면6


400
300
200
100
0
ng/g
1B3 TRII S239D/I332E
1B3 TRII L234A/L235A

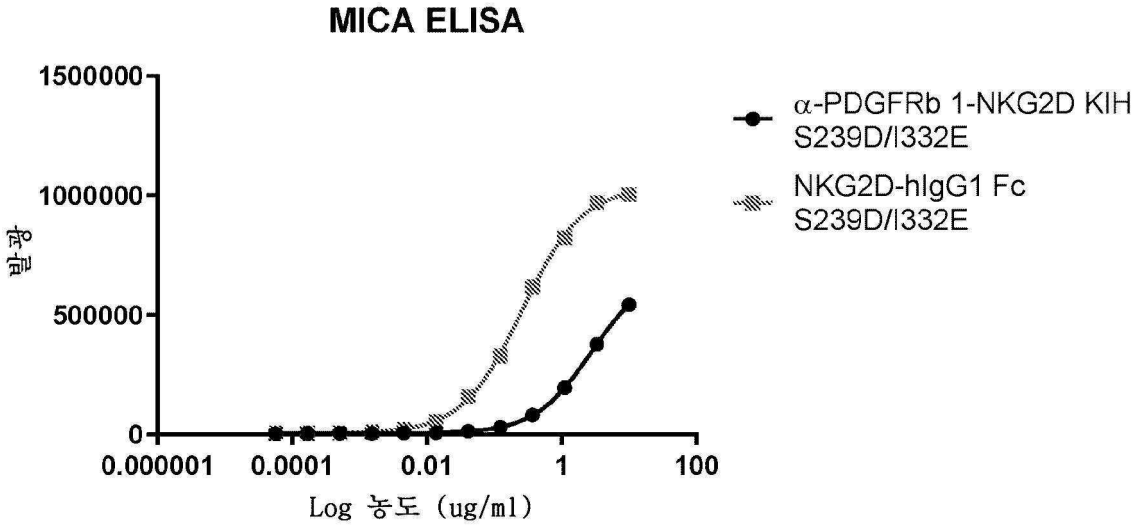
도면7


300000
200000
100000
0
ng/ml
일수 9 1B3-TRII S239D/I332E
일수 9 1B3-TRII L234A/L235A
일수 27 1B3-TRII S239D/I332E
일수 27 1B3-TRII L234A/L235A

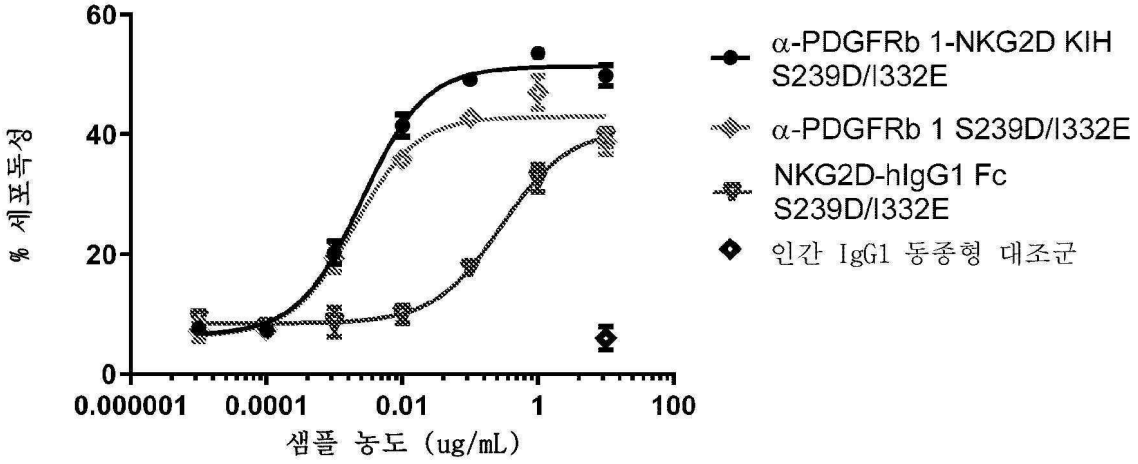
도면8a



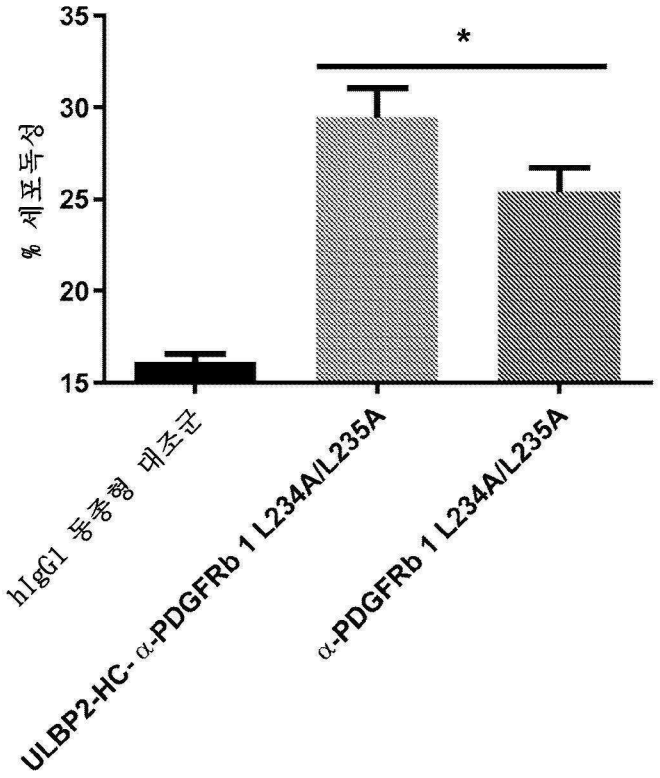
도면8b



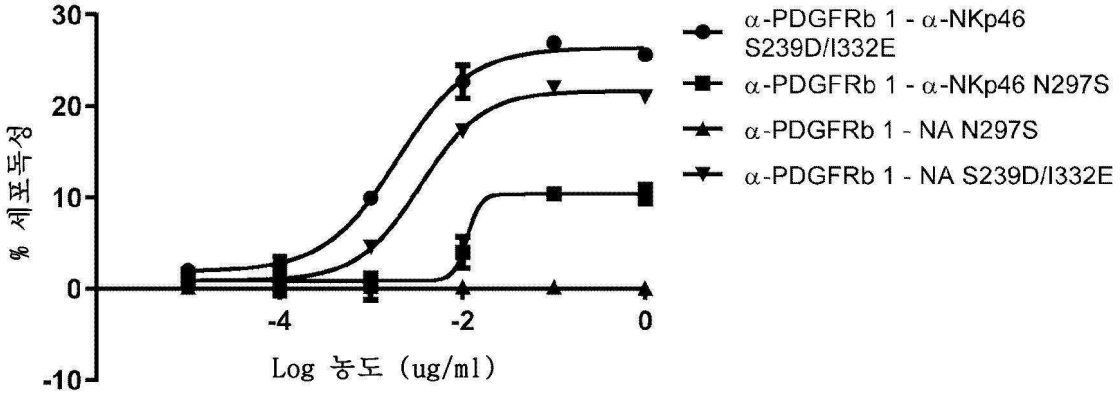
도면8c



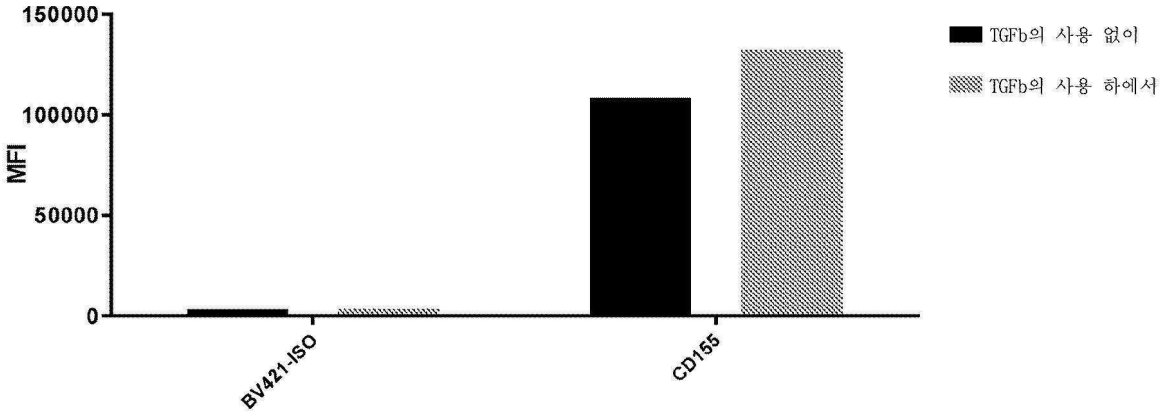
도면9



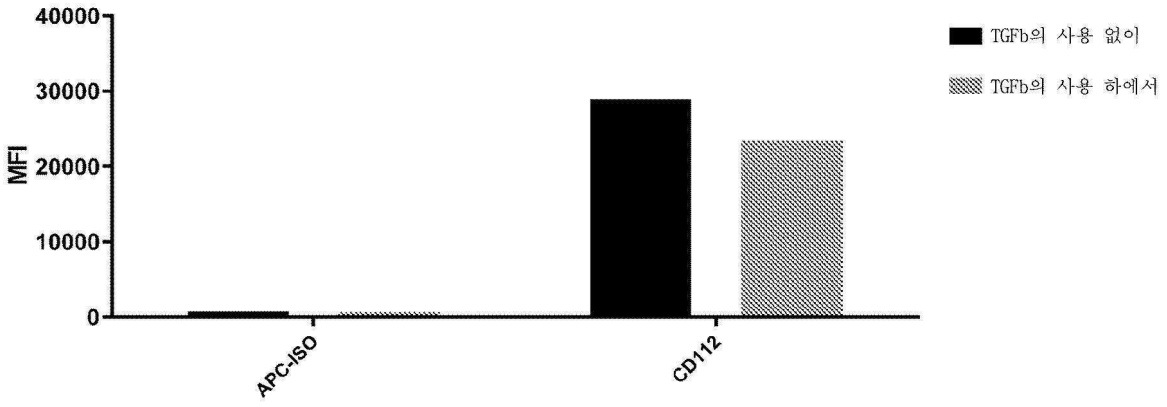
도면10



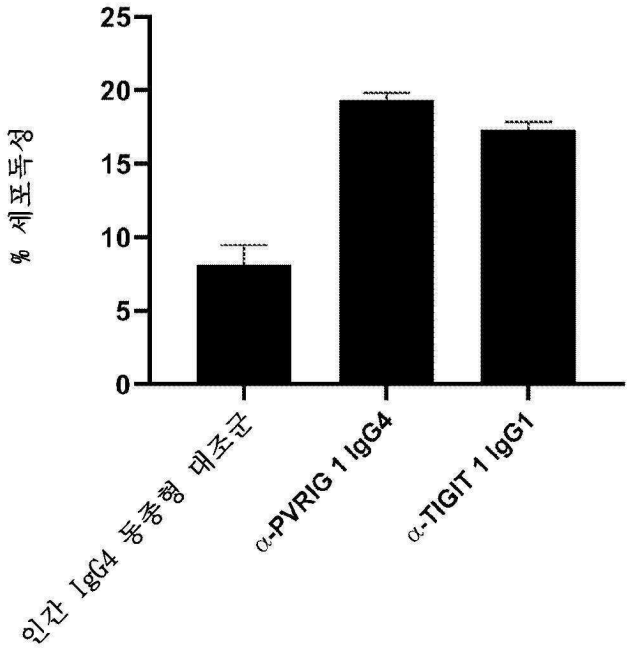
도면11a



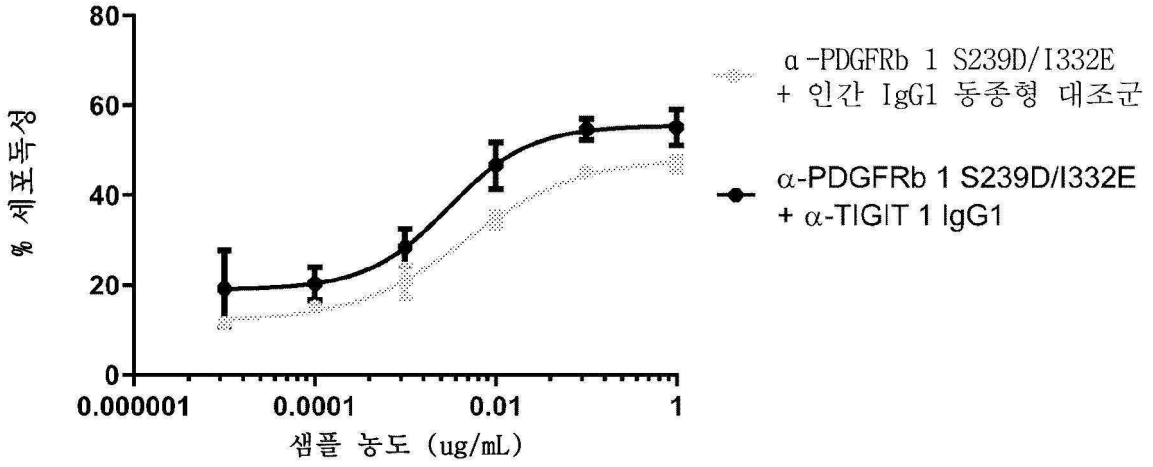
도면11b



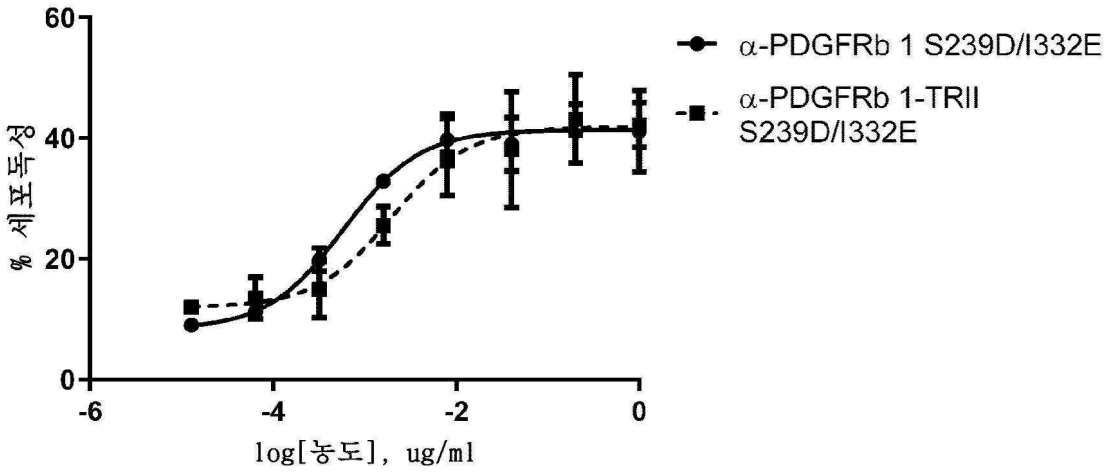
도면11c



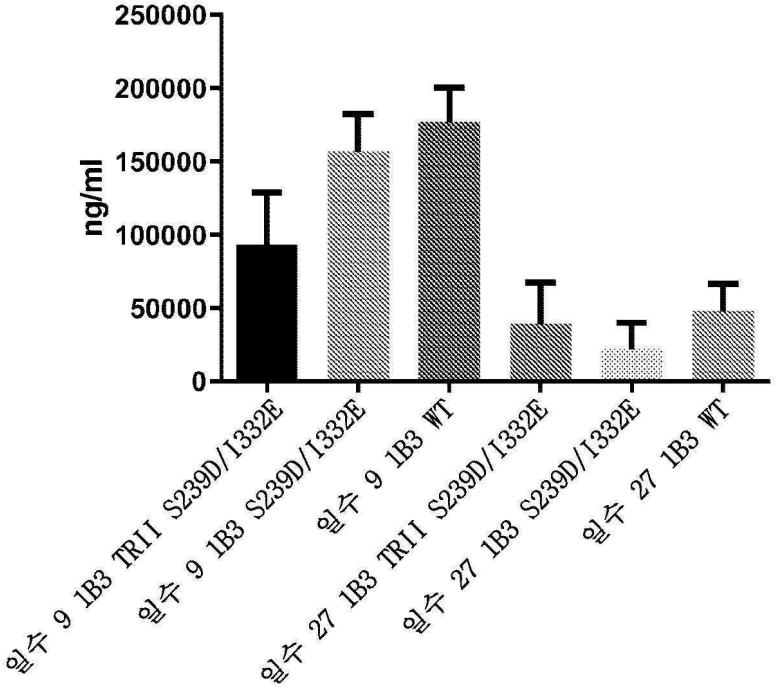
도면11d



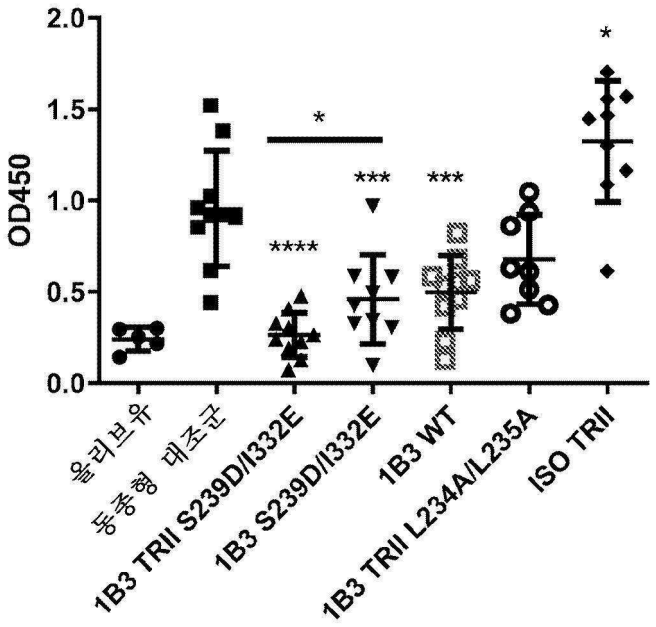
도면12a


60
40
20
0
% 세포독성
-6
-4
-2
0
log[농도], ug/ml
α-PDGFRb 1 S239D/I332E
α-PDGFRb 1-TRII S239D/I332E

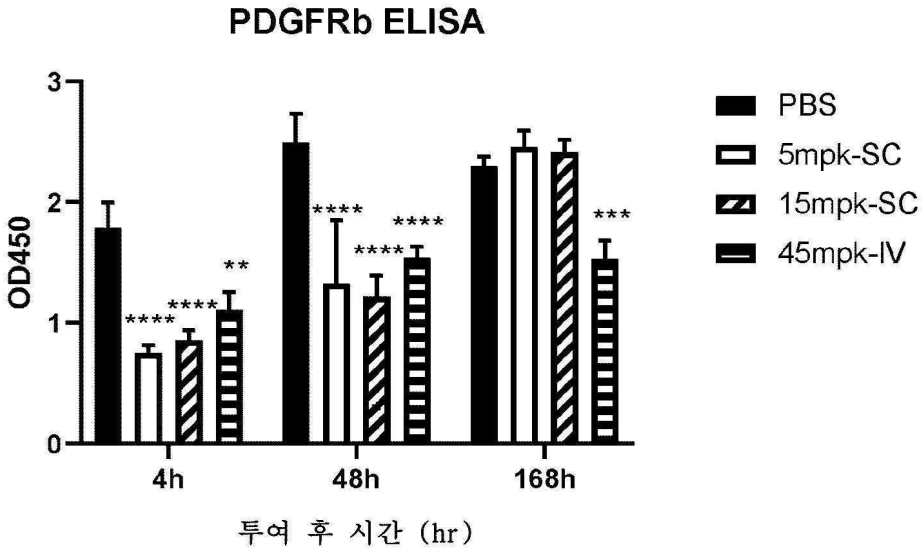
도면12b


250000
200000
150000
100000
50000
0
ng/ml
일수 9 1B3 TRII S239D/I332E
일수 9 1B3 S239D/I332E
일수 9 1B3 WT
일수 27 1B3 TRII S239D/I332E
일수 27 1B3 S239D/I332E
일수 27 1B3 WT

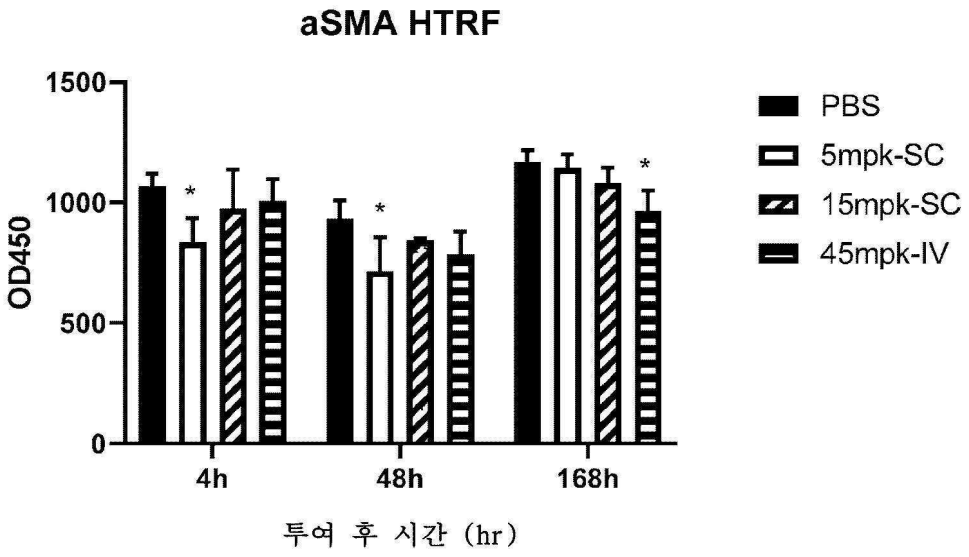
도면12c


2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD450
*
****
***
***
*
올리브유
동종형 대조군
1B3 TRII S239D/I332E
1B3 S239D/I332E
1B3 WT
1B3 TRII L234A/L235A
ISO TRII

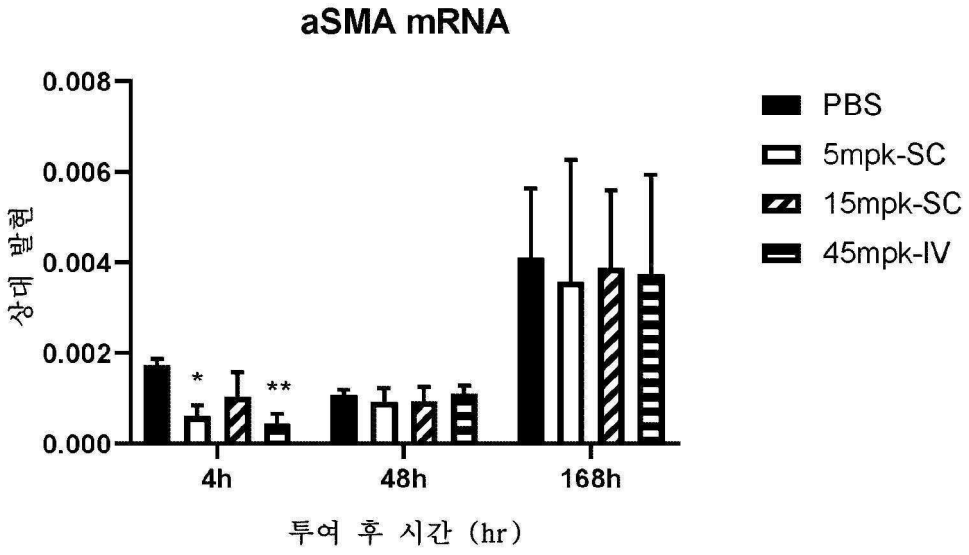
도면13a


PDGFRb ELISA
3
2
1
0
OD450
****
****
**
****
****
****
***
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

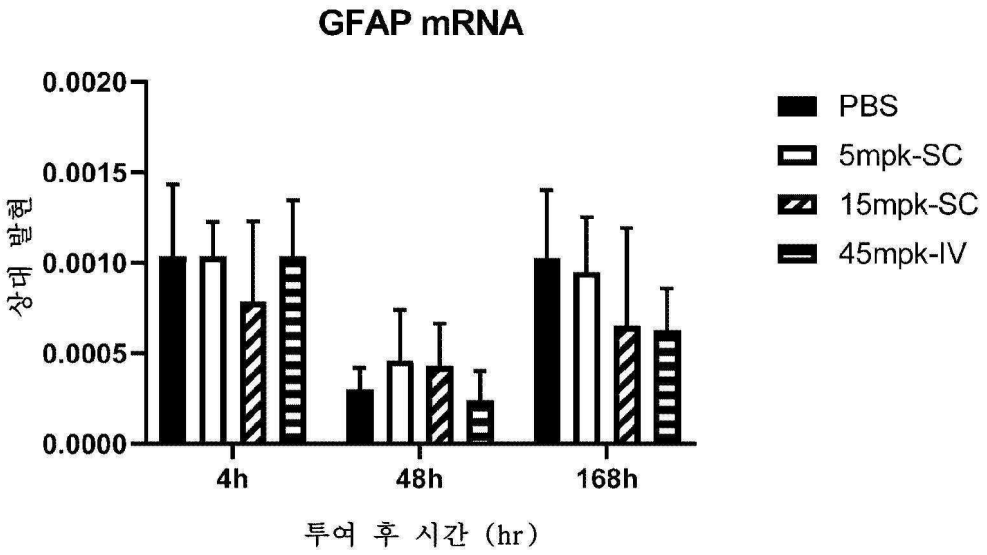
도면13b


aSMA HTRF
1500
1000
500
0
OD450
*
*
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

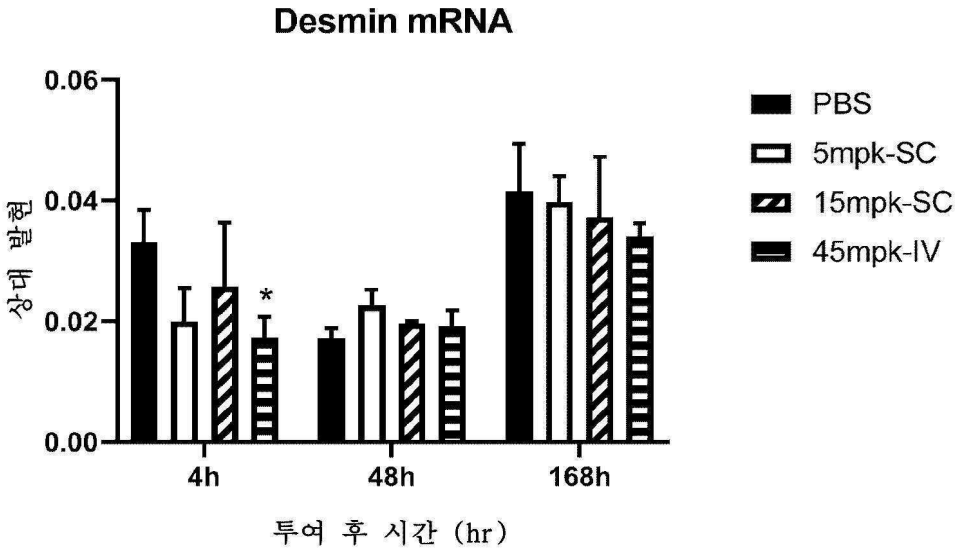
도면13c


aSMA mRNA
0.008
0.006
0.004
0.002
0.000
상대 발현
*
**
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

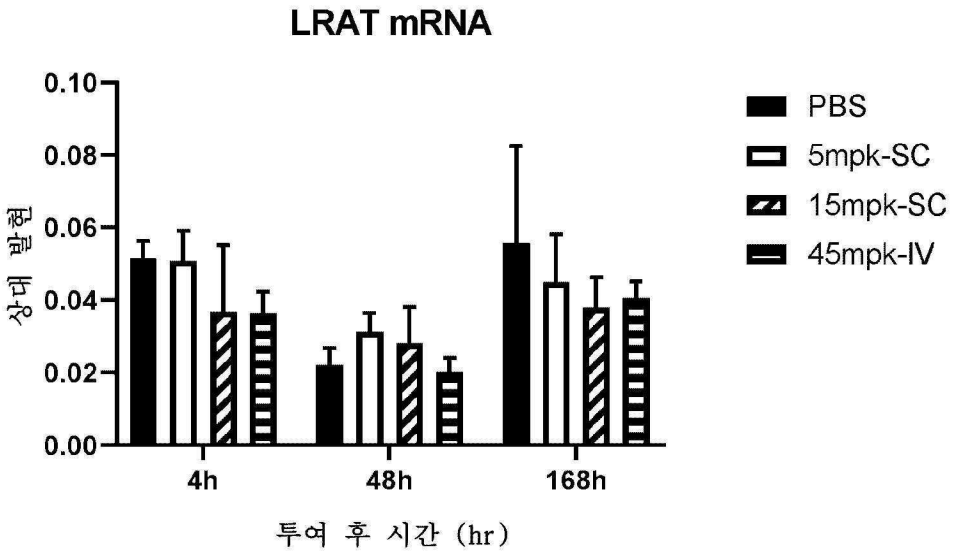
도면13d


GFAP mRNA
0.0020
0.0015
0.0010
0.0005
0.0000
상대 발현
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

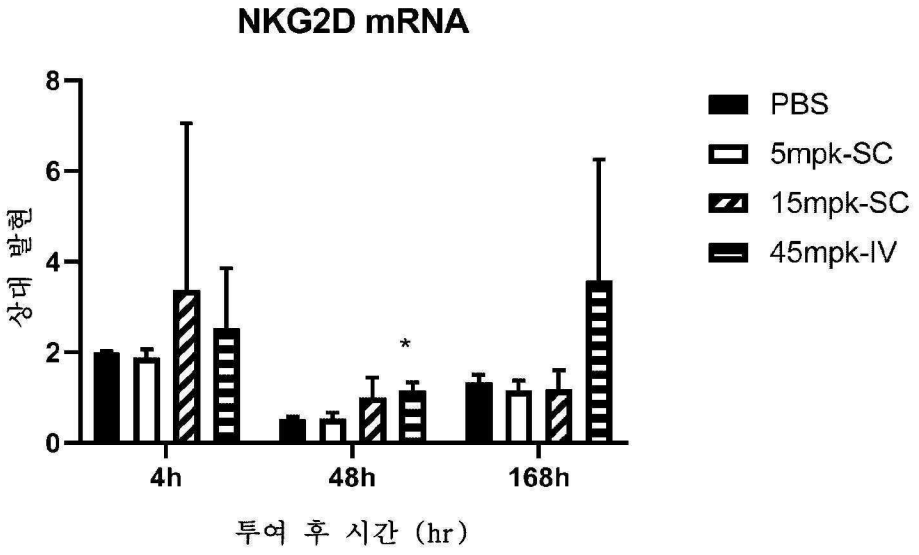
도면13e


Desmin mRNA
0.06
0.04
0.02
0.00
상대 발현
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

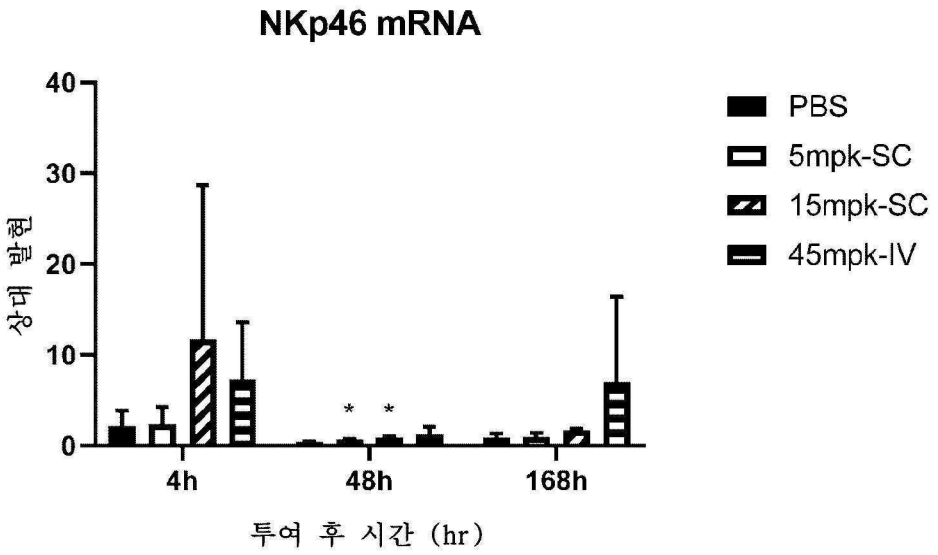
도면13f


LRAT mRNA
0.10
0.08
0.06
0.04
0.02
0.00
상대 발현
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

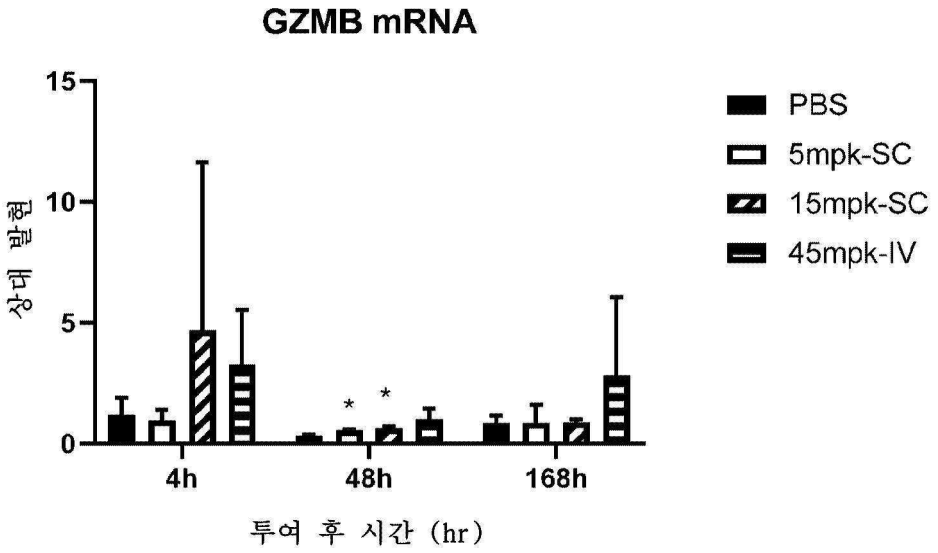
도면14a


NKG2D mRNA
8
6
4
2
0
상대 발현
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

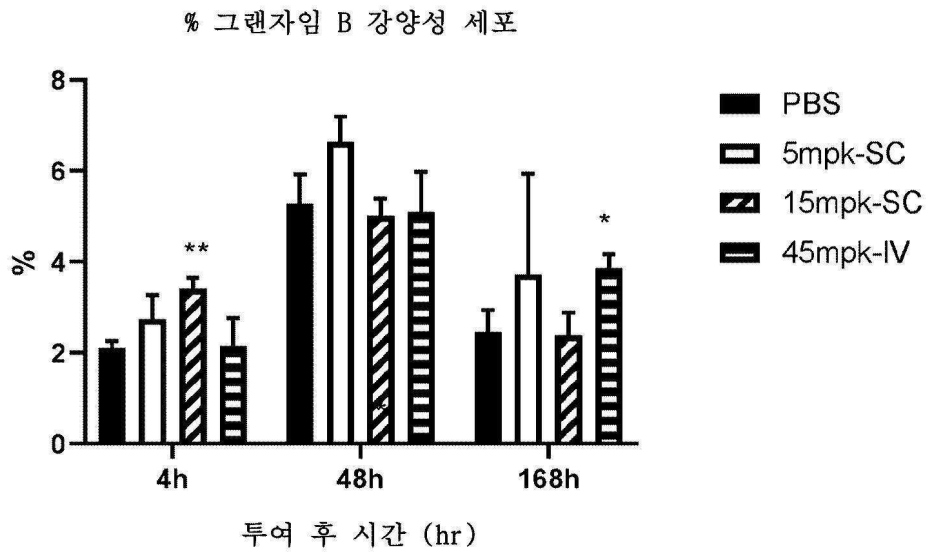
도면14b


NKp46 mRNA
40
30
20
10
0
상대 발현
*
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

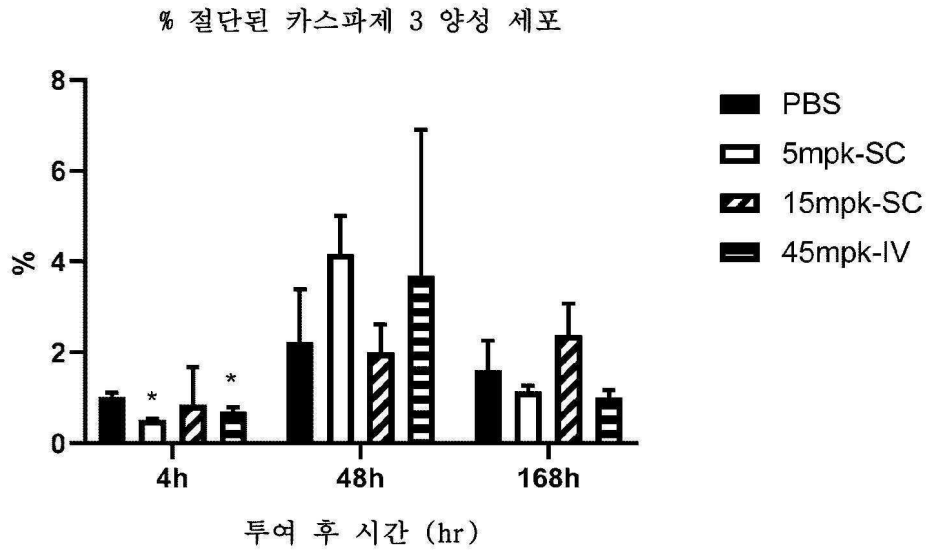
도면14c


GZMB mRNA
15
10
5
0
상대 발현
*
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

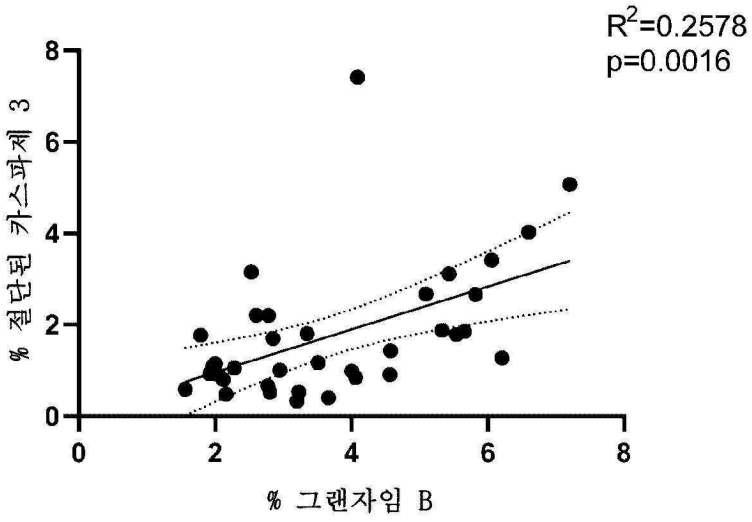
도면14d


% 그랜자임 B 강양성 세포
8
6
4
2
0
%
**
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

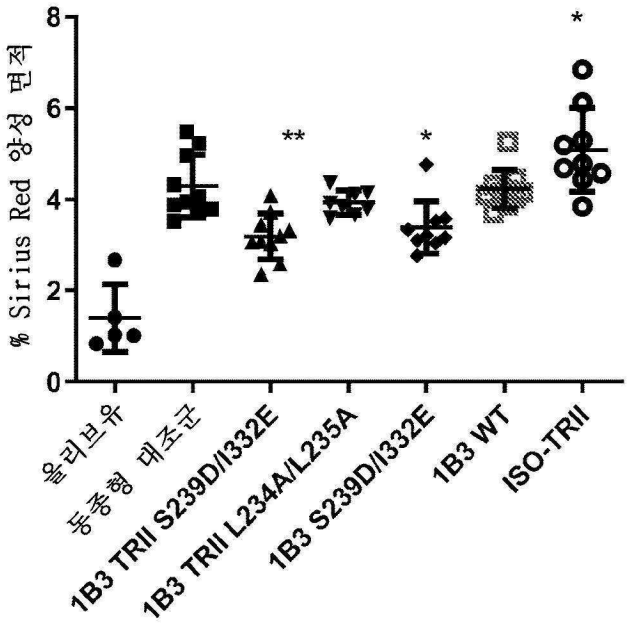
도면14e


% 절단된 카스파제 3 양성 세포
8
6
4
2
0
%
*
*
4h
48h
168h
투여 후 시간 (hr)
PBS
5mpk-SC
15mpk-SC
45mpk-IV

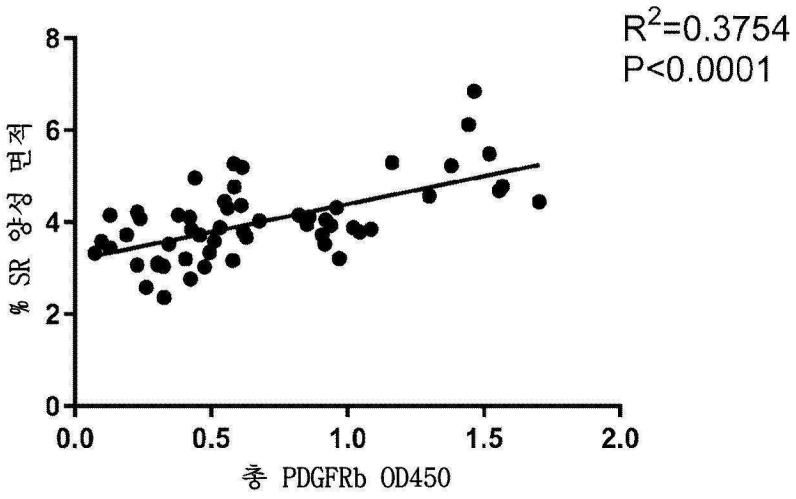
도면14f


R2=0.2578
p=0.0016
% 절단된 카스파제 3
% 그랜자임 B
0
2
4
6
8

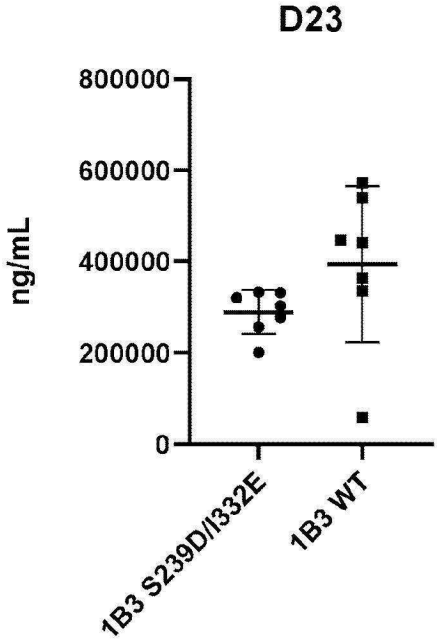
도면15a


% Sirius Red 양성 면적
0
2
4
6
8
**
*
*
올리브유
동종형 대조군
1B3 TRII S239D/I332E
1B3 TRII L234A/L235A
1B3 S239D/I332E
1B3 WT
ISO-TRII

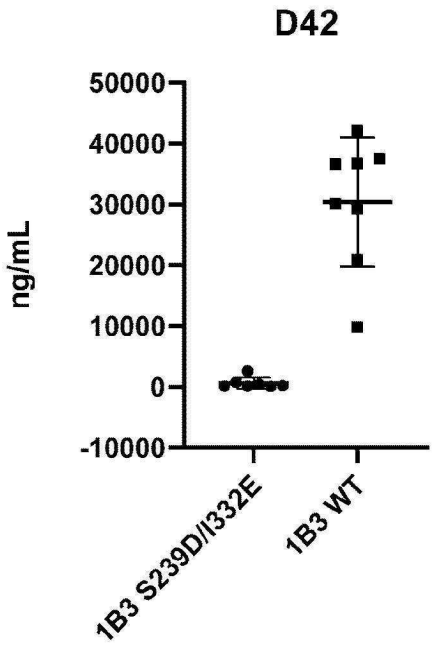
도면15b


R2=0.3754
P<0.0001
% SR 양성 면적
총 PDGFRb OD450
0
2
4
6
8
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0

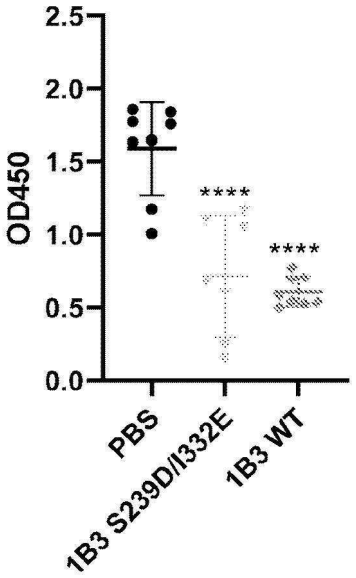
도면16a


D23
ng/mL
800000
600000
400000
200000
0
1B3 S239D/I332E
1B3 WT

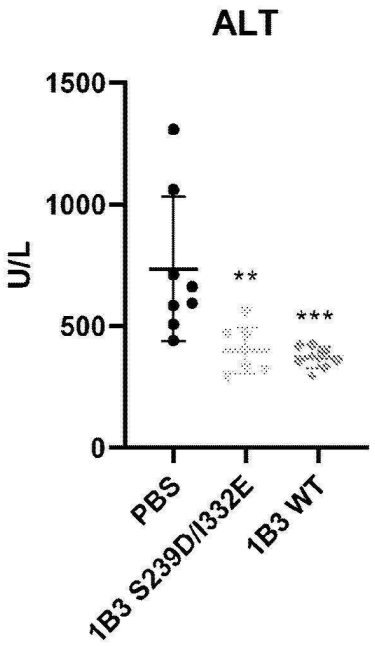
도면16b


D42
50000
40000
30000
20000
10000
0
-10000
ng/mL
1B3 S239D/I332E
1B3 WT

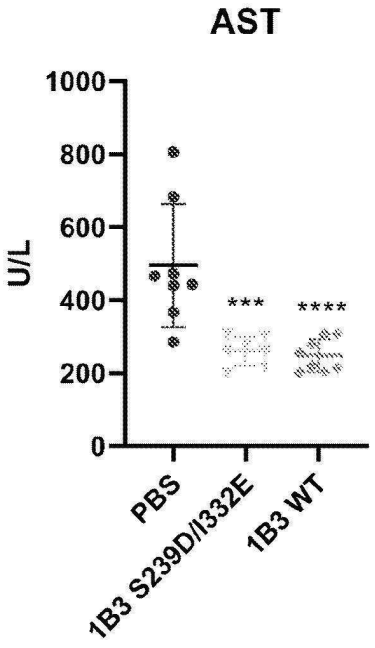
도면17a


2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
OD450
****
****
PBS
1B3 S239D/I332E
1B3 WT

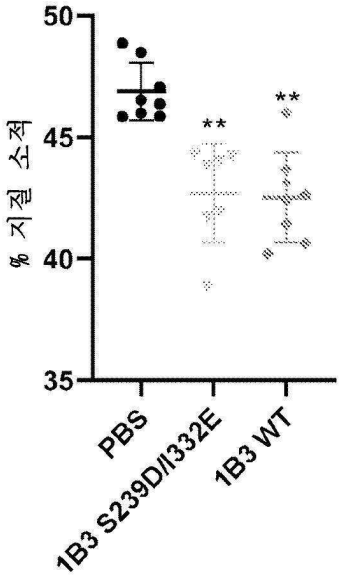
도면17b


ALT
1500
1000
500
0
U/L
**
***
PBS
1B3 S239D/I332E
1B3 WT

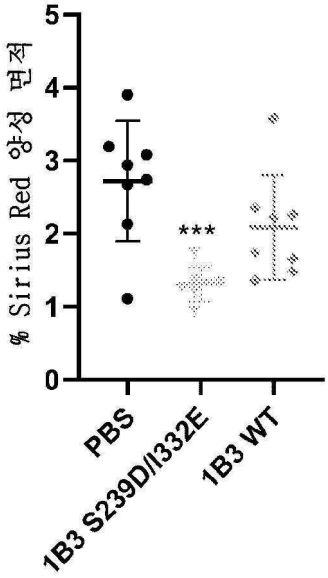
도면17c


AST
1000
800
600
400
200
0
U/L
***
****
PBS
1B3 S239D/I332E
1B3 WT

도면17d



도면17e



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> LAEKNA THERAPEUTICS SHANGHAI CO., LTD.

<120> DEPLETION OF ACTIVATED HEPATIC STELLATE CELLS (HSCS) AND USES THEREOF

<130> 14668-006-228

<140><141><150> PCT/CN2021/104201

<151> 2021-07-02

<160> 299

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) HCDR1

<400> 1

Asn Tyr Ala Ile Asn

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) HCDR2

<400> 2

Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) HCDR3

<400> 3

Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) LCDR1

<400> 4

His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp Leu Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) LCDR2

<400> 5

Lys Ala Ser Asn Leu His Thr

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) LCDR3

<400>

6

Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 7

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) HCDR1

<400> 7

Asp Met Tyr Ile His

1 5

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) HCDR2

<400> 8

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

1 5 10 15

<210> 9

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) HCDR3

<400> 9

Gly Asn Tyr Val His

1 5

<210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) LCDR1

<400> 10

Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr Gly Thr Ser Leu Met Gln

1 5 10 15

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) LCDR2

<400> 11

Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser

1 5

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) LCDR3

<400> 12

Gln Gln Ser Arg Arg Val Trp Thr

1 5

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) HCDR1

<400> 13

Asp Met Tyr Leu His

1 5

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) HCDR2

<400> 14

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

1 5 10 15

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) HCDR3

<400> 15

Gly Asn Tyr Val His

1 5

<210> 16

<211> 15

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) LCDR1

<400> 16

Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr Gly Thr Ser Leu Met Gln

1 5 10 15

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) LCDR2

<400> 17

Ala Ala Ser Asn Val Gly Ser

1 5

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) LCDR3

<400> 18

Gln Gln Thr Arg Arg Val Trp Thr

1 5

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) HCDR1

<400> 19

Asp Ser Tyr Met His

1 5

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) HCDR2

<400> 20

Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe Gln Gly

1 5 10 15

<210> 21

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) HCDR3

<400> 21

Arg Gly Phe Tyr

1

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) LCDR1

<400> 22

Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Tyr

1 5 10

<210> 23

<211> 7

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) LCDR2

<400> 23

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) LCDR3

<400> 24

Tyr Gln Trp Ser Thr His Pro Tyr Thr

1 5

<210> 25

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) HCDR1

<400> 25

Glu Tyr Thr Ile His

1 5

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) HCDR2

<400> 26

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

1 5 10 15

Gly

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) HCDR3

<400> 27

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

1 5 10 15

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) LCDR1

<400> 28

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Arg Asn Gln Lys Asn Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) LCDR2

<400> 29

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 30

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) LCDR3

<400> 30

Gln Gln Tyr Phe Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) HCDR1

<400> 31

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) HCDR2

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) HCDR3

<400> 33

Tyr Cys Ala Lys Gly Trp Phe Gly

1 5

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) LCDR1

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser Tyr Leu

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) LCDR2

<400> 35

Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) LCDR3

<400> 36

Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro Pro

1 5

<210> 37

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) HCDR1

<400> 37

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) HCDR2

<400> 38

Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Asn

<210> 39

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) HCDR3

<400> 39

Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) LCDR1

<400> 40

Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) LCDR2

<400> 41

Trp Ala Ser Thr Arg His Thr

1 5

<210> 42

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) LCDR3

<400> 42

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) HCDR1

<400> 43

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) HCDR2

<400> 44

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

<210> 45

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) HCDR3

<400> 45

Asp Gln His Ile Val Val Val Thr Ala Ile Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) LCDR1

<400> 46

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

1 5 10 15

Ala

<210> 47

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) LCDR2

<400> 47

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 48

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) LCDR3

<400> 48

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ile Phe Pro Trp Thr

1 5 10

<210> 49

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) HCDR1

<400> 49

Ile Tyr Arg Met Gln

1 5

<210> 50

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) HCDR2

<400> 50

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

1 5 10 15

Gly

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) HCDR3

<400> 51

Trp Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) LCDR1

<400> 52

Gln Ala Ser Arg Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) LCDR2

<400> 53

Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) LCDR3

<400> 54

Gln Gln Phe Asp Ser Leu Pro His Thr

1 5

<210> 55

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) HCDR1

<400> 55

Asn Tyr Pro Met Tyr

1 5

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) HCDR2

<400> 56

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

1 5 10 15

Gly

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) HCDR3

<400> 57

Asp Arg Trp Ser Arg Ser Ala Ala Glu Tyr Gly Leu Gly Gly Tyr

1 5 10 15

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) LCDR1

<400> 58

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

1 5 10 15

Ala

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) LCDR2

<400> 59

Leu Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 60

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) LCDR3

<400> 60

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Trp Thr

1 5

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) HCDR1

<400> 61

Asp Tyr Val Ile Asn

1 5

<210> 62

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) HCDR2

<400> 62

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

1 5 10 15

Ala Lys Ala

<210> 63

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) HCDR3

<400> 63

Arg Gly Arg Tyr Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) LCDR1

<400> 64

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) LCDR2

<400> 65

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser

1 5

<210> 66

<211> 9

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) LCDR3

<400> 66

Gln Gln Gly Asn Thr Arg Pro Trp Thr

1 5

<210> 67

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) VH

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDGFRb antibody (alpha-PDGFRb 1) VL

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 69

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) VH

<400> 69

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gln Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Asn Leu Pro Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Ala

<210> 70

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 1) VL

<400> 70

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Arg

85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 71

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) VH

<400> 71

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Ala

<210> 72

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 2) VL

<400> 72

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 73

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) VH

<400> 73

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser

100 105 110

Ser

<210> 74

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-SIRPA antibody (alpha-SIRPA 3) VL

<400> 74

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 75

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) VH

<400> 75

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Arg Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 76

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 1) VL

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 77

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) VH

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-FAPalpha antibody (alpha-FAPalpha 2) VL

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 79

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) VH

<400> 79

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 80

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PDL1 antibody (alpha-PDL1 1) VL

<400> 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 81

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) VH

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln His Ile Val Val Val Thr Ala Ile Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 82

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-uPAR antibody (alpha-uPAR 1) VL

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys

<210> 83

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) VH

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 84

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 1) VL

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 85

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) VH

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Arg Trp Ser Arg Ser Ala Ala Glu Tyr Gly Leu Gly Gly

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 86

<

211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-IGF1R antibody (alpha-IGF1R 2) VL

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 87

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) VH

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Ile Asn Trp Gly Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 88
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Exemplary anti-NKp46 antibody (alpha-NKp46 1) VL
<400> 88
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Arg Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 89

<211> 139

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D extracellular domain

<400> 89

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val

130 135

<210> 90

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1 extracellular domain

<400> 90

Gly Trp Val Asp Thr His Cys Leu Cys Tyr Asp Phe Ile Ile Thr Pro

1 5 10 15

Lys Ser Arg Pro Glu Pro Gln Trp Cys Glu Val Gln Gly Leu Val Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Thr Glu Thr Leu Arg Asp Val Val Asp Phe Leu Lys Gly Gln Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu His Glu Ala His Gly His Gly Arg Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Leu Phe Asn Gly Gln Lys Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Asn Asn Arg Lys Trp Thr Ala Leu His Pro Gly Ala Lys Lys Met Thr

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Lys Asn Arg Asp Val Thr Met Phe Phe Gln Lys Ile

145 150 155 160

Ser Leu Gly Asp Cys Lys Met Trp Leu Glu Glu Phe Leu Met Tyr Trp

165 170 175

Glu Gln Met Leu Asp Pro Thr Lys Pro Pro Ser Leu Ala Pro

180 185 190

<210> 91

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2 extracellular domain

<400> 91

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

1 5 10 15

Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp

20 25 30

Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro

35 40 45

Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe

145 150 155 160

Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met

165 170 175

Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met

180 185 190

<210> 92

<211> 284

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA extracellular domain

<400> 92

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280

<210> 93

<211> 287

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB extracellular domain

<400> 93

Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp
1 5 10 15

Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln
20 25 30

Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Arg Ala Lys Pro Gln Gly
35 40 45

Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr
50 55 60

Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu Arg Arg Thr Leu Thr His
65 70 75 80

Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val
85 90 95

Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg Gly Ser Arg His Phe Tyr
100 105 110

Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Ser
115 120 125

Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr
130 135 140

Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala
145 150 155 160

Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly
165 170 175

Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser
180 185 190

Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe
195 200 205

Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu
210 215 220

Ser His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly
225 230 235 240
Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln
245 250 255
Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro
260 265 270
Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp
275 280 285

<210> 94
<211> 136
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> TGFb receptor II extracellular domain
<400> 94
Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn Asp Met Ile Val Thr
1 5 10 15
Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu Cys Lys Phe Cys Asp
20 25 30
Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser Cys Met Ser Asn Cys
35 40 45

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

Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn Ile Ile Phe Ser Glu

115 120 125

Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

130 135

<210> 95

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 95

Ile Glu Gly Arg

1

<210> 96

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 96

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 97

<

211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 97

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 98

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 98

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 99

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 99

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 100

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 100

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 101

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 101

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

20

<210> 102

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 102

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1 5 10

<210> 103

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 103

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 104

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala

1 5

<210> 105

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary linker

<400> 105

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro

20

<210> 106

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 106

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

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

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 107

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 107

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 108

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 108

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gln Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Leu Ser Asn Leu Pro Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 109

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 109

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Arg
85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 110

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 S239D/I332E Chain 1

<400> 110

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 111

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 S239D/I332E Chain 2

<400> 111

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg
85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 112

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 3 S239D/I332E Chain 1

<400> 112

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Ser

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Lys Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Lys Tyr Ala Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

145 150 155 160

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
180 185 190
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
195 200 205
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

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

275 280 285
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
325 330 335
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

340 345 350
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

405 410 415
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 113

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 3 S239D/I332E Chain 2

<400> 113

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Leu Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

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

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 114

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-FAPa 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 114

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Thr Ser Arg Tyr Thr Phe Thr Glu Tyr

20 25 30

Thr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr

115 120 125

Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly

130 135 140

Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro

145 150 155 160

Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val

180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val

195 200 205

Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg

210 215 220

Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp

245 250 255

Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp

260 265 270

Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn

275 280 285

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro

325 330 335

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

340 345 350

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys

355 360 365

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile

370 375 380

Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn

385 390 395 400

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

405 410 415

Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys

420 425 430

Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe

435 440 445

Ser Arg Thr Pro Gly Lys

450

<210> 115

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-FAPa 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser

115 120 125

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

130 135 140

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

Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215 220
<210> 116
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-FAPa 2 Chain 1
<400> 116
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

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

225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 117

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-FAPa 2 Chain 2

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 118

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDL1 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 118

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Gln Arg Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Arg Lys Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 119

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDL1 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 120

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-uPAR 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 120

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln His Ile Val Val Val Thr Ala Ile Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450
<210> 121
<211> 221
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-uPAR 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 121
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Gly
20 25 30
Ser Asn Asn Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser

115 120 125

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

130 135 140

Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp

180 185 190

Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu

195 200 205

Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215 220

<210> 122

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-IGF1R 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Trp Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 123

<211> 214

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-IGF1R 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 124

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-IGF1R 2 S239D/I332E Chain 1

<400> 124

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

1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
275 280 285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
290 295 300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
305 310 315 320
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
325 330 335

Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
340 345 350
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
355 360 365
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
370 375 380
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 125
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-IGF1R 2 S239D/I332E Chain 2
<400> 125

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

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

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

180 185 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 126
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 L234A/L235A Chain 1

<400> 126

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

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

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

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

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

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

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

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 127

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 L234A/L235A Chain 2

<400> 127

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 128

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 Chain 1

<400> 128

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met
20 25 30

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
225 230 235 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
245 250 255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
305 310 315 320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
340 345 350

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

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 129

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 Chain 2

<400> 129

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 130

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 L234A/L235A Chain 1

<400> 130

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

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

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

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

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
405 410 415
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 131

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 L234A/L235A Chain 2

<400> 131

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr
20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

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

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg
85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 132

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 S239D/A330L/I332E Chain 1

<400> 132

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

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

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

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

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 133

<

211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 S239D/A330L/I332E Chain 2

<400> 133

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 134

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 F243L/R292P/Y300L Chain 1

<400> 134

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275 280 285

Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr

290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
420 425 430
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440
<210> 135
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-SIRPA 2 F243L/R292P/Y300L Chain 2

<400> 135
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr
20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Gly Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

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

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

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 136

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L Chain 1

<400> 136

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195 200 205

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

275 280 285

Pro Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr

290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440

<210> 137

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L Chain 2

<400> 137

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

1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30

Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His

65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95

Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 138

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG1 Fc-NKG2D Chain 1

<400> 138

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10 15

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Glu Gly Arg Phe Leu Asn Ser Leu

225 230 235 240

Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro

245 250 255

Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe

260 265 270

Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln

275 280 285

Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu

290 295 300

Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr

305 310 315 320

Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu

325 330 335

Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser

340 345 350

Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile

355 360 365

Cys Met Gln Arg Thr Val

370

<210> 139

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG1 Fc-NKG2D S239D/I332E Chain 1

<400> 139

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10 15

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Glu Gly Arg Phe Leu Asn Ser Leu

225 230 235 240

Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro

245 250 255

Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe

260 265 270

Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln

275 280 285

Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu

290 295 300

Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr

305 310 315 320

Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu

325 330 335

Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser

340 345 350

Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile

355 360 365

Cys Met Gln Arg Thr Val

370

<210> 140

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hIgG1 Fc-NKG2D L234A/L235A Chain 1

<400> 140

Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Glu Gly Arg Phe Leu Asn Ser Leu

225 230 235 240

Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro

245 250 255

Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe

260 265 270

Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln
275 280 285
Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu
290 295 300
Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr
305 310 315 320
Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu
325 330 335

Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser
340 345 350
Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile
355 360 365
Cys Met Gln Arg Thr Val
370
<210> 141
<211> 537
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> NKG2D-hIgG1 Fc S239D/I332E Chain 1
<400> 141
Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu

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

65 70 75 80
Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile
85 90 95

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

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

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

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

325 330 335
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

340 345 350

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

355 360 365

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

370 375 380

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

385 390 395 400

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

405 410 415

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

420 425 430

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

435 440 445

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

450 455 460

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

465 470 475 480

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

485 490 495

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

500 505 510

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

515 520 525

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

530 535

<210> 142

<211> 537

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-hIgG1 Fc L234A/L235A Chain 1

<400> 142

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro

145 150 155 160

Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr

165 170 175

Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu

180 185 190

Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr

195 200 205

Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp

210 215 220

Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp

225 230 235 240

Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys

245 250 255

Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn
260 265 270
Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly
275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
290 295 300
Gly Ser Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
305 310 315 320
Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
325 330 335
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
340 345 350

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

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

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
485 490 495
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

500 505 510

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

515 520 525

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

530 535

<210> 143

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL kappa

<400> 143

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 144

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH wild type

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 145
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH S239D/I332E
<400> 145
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

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

100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

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

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

225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330
<210> 146
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH L234A/L235A
<400> 146

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

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

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

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

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

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 147

<211> 330

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH S239D/A330L/I332E

<400> 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 148

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L

<400> 148

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Val Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Leu Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 149

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH F243L/R292P/Y300L

<400> 149

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Leu Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Pro Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 150

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH N297S

<400> 150

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 151

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH2-CH3

<400> 151

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> 152
<211> 98
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH1
<400> 152
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

<210> 153
<211> 232
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH2-CH3 S239D/I332E

<400> 153
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 Asp 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 Glu 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> 154
<211> 232
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH2-CH3 N297S
<400> 154
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 Ser 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> 155
<211> 605
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1-TRII S239D/I332E Chain 1
<400> 155
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

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

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

85 90 95

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

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

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

450 455 460

Gly Gly Gly Ser Gly Ile Pro Pro His Val Gln Lys Ser Val Asn Asn

465 470 475 480

Asp Met Ile Val Thr Asp Asn Asn Gly Ala Val Lys Phe Pro Gln Leu

485 490 495

Cys Lys Phe Cys Asp Val Arg Phe Ser Thr Cys Asp Asn Gln Lys Ser

500 505 510

Cys Met Ser Asn Cys Ser Ile Thr Ser Ile Cys Glu Lys Pro Gln Glu

515 520 525

Val Cys Val Ala Val Trp Arg Lys Asn Asp Glu Asn Ile Thr Leu Glu

530 535 540

Thr Val Cys His Asp Pro Lys Leu Pro Tyr His Asp Phe Ile Leu Glu

545 550 555 560

Asp Ala Ala Ser Pro Lys Cys Ile Met Lys Glu Lys Lys Lys Pro Gly

565 570 575

Glu Thr Phe Phe Met Cys Ser Cys Ser Ser Asp Glu Cys Asn Asp Asn

580 585 590

Ile Ile Phe Ser Glu Glu Tyr Asn Thr Ser Asn Pro Asp

595 600 605

<210> 156

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1-TRII S239D/I332E Chain 2

<400> 156

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 157

<211> 737

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-GS-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 157

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn

305 310 315 320

Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

325 330 335

Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

385 390 395 400

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
405 410 415
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
420 425 430
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
435 440 445

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
450 455 460
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
465 470 475 480
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
485 490 495
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
500 505 510

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
515 520 525
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
530 535 540
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545 550 555 560
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
565 570 575

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
580 585 590
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
595 600 605
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys
610 615 620
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

705 710 715 720

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

725 730 735

Lys

<210> 158

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-GS-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 158

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 159

<211> 732

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 159

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp

305 310 315 320

Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp

325 330 335

Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr

340 345 350

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

355 360 365

Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr

370 375 380

Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

435 440 445

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

450 455 460

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

465 470 475 480

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

485 490 495

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

500 505 510

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

515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

565 570 575

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

725 730

<210> 160

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 160

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

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

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 161
<211> 742
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MICA-GS2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1
<400> 161
Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly
1 5 10 15
Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp

385 390 395 400

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn

485 490 495

Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro

500 505 510

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

515 520 525

Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

530 535 540

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

645 650 655

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740

<210> 162

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-GS2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 162

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 163

<211> 747

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-GS3-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 163

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val

325 330 335

Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr

340 345 350

Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile

355 360 365

Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val

370 375 380

Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg

385 390 395 400

Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

450 455 460

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

465 470 475 480

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

485 490 495

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

500 505 510

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

515 520 525

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

530 535 540

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

545 550 555 560

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

565 570 575

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

580 585 590

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

595 600 605

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

610 615 620

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

625 630 635 640

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

645 650 655

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

660 665 670

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

675 680 685

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

690 695 700

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
705 710 715 720
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
725 730 735
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740 745

<210> 164
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MICA-GS3-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 164
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 165

<211> 752

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-GS4-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 165

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

340 345 350

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

405 410 415

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

420 425 430

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

435 440 445

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

450 455 460

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

465 470 475 480

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

485 490 495

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

500 505 510

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

515 520 525

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

530 535 540

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

545 550 555 560

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

565 570 575

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

580 585 590

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

595 600 605

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

610 615 620

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr

625 630 635 640

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
645 650 655
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

660 665 670
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
675 680 685
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
690 695 700
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
705 710 715 720
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

725 730 735
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740 745 750
<210> 166
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MICA-GS4-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 166
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 167

<211> 744

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 167

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val

305 310 315 320

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

Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala
370 375 380
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe
385 390 395 400
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
405 410 415
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
420 425 430

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
500 505 510
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
515 520 525
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
530 535 540
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
545 550 555 560

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

565 570 575

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

580 585 590

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

595 600 605

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

610 615 620

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

625 630 635 640

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

645 650 655

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

660 665 670

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

675 680 685

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

690 695 700

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

705 710 715 720

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

725 730 735

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740

<210> 168

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 168

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 169

<211> 749

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-EAK3-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 169

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

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

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

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

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

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260 265 270

Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp Ala Glu Ala Ala
275 280 285
Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gln Val Gln
290 295 300
Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser
305 310 315 320
Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn
325 330 335

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile
340 345 350
Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu
355 360 365
Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser
370 375 380
Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly
385 390 395 400

Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
405 410 415
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
420 425 430
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
435 440 445
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
450 455 460

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
465 470 475 480
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
485 490 495
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys

500 505 510

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys

515 520 525

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

530 535 540

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu

545 550 555 560

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys

565 570 575

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

580 585 590

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu

595 600 605

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

610 615 620

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys

625 630 635 640

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

645 650 655

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

660 665 670

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln

675 680 685

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

690 695 700

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

705 710 715 720

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

725 730 735

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740 745

<210> 170

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-EAK3-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 170

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 171

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 171

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly

1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro

20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile

65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys

85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr

100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr

115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn

130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met

145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val

165 170 175

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

225 230 235 240
Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg
245 250 255
Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val
260 265 270
Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp Ala Pro Ala Pro
275 280 285
Ala Pro Ala Pro Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu

290 295 300
Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe
305 310 315 320
Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys
325 330 335
Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr
340 345 350
Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

465 470 475 480

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

485 490 495

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Leu Ser Pro Gly Lys

740

<210

> 172

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 172

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 173

<211> 753

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-GS4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 173

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro

145 150 155 160

Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr

165 170 175

Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu

180 185 190

Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr

195 200 205

Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp

210 215 220

Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp

225 230 235 240

Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys

245 250 255

Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn

260 265 270

Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly

275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn

325 330 335

Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

340 345 350

Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu
355 360 365
Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

385 390 395 400
Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
405 410 415
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
420 425 430
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
435 440 445
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

450 455 460
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
465 470 475 480
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
485 490 495
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
500 505 510
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

515 520 525
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
530 535 540
Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
545 550 555 560
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
565 570 575
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

580 585 590
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

595 600 605

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

725 730 735

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

740 745 750

Lys

<210> 174

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-GS4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 174

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 175

<211> 768

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-GS4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 175

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

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

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

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

Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met
225 230 235 240
Gly Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly
245 250 255
Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly
260 265 270

Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys
275 280 285

Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Gly
290 295 300
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305 310 315 320
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
325 330 335
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
340 345 350

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

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

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
485 490 495
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
500 505 510
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

515 520 525

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

530 535 540

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

545 550 555 560

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

565 570 575

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

580 585 590

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

595 600 605

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

610 615 620

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

625 630 635 640

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

705 710 715 720

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

725 730 735

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

740 745 750

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

755 760 765

<210> 176

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-GS4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 176

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

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

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 177

<211> 756

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-EAK4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 177

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro

145 150 155 160

Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr

165 170 175

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

225 230 235 240
Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys
245 250 255
Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn
260 265 270
Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Ala Glu
275 280 285
Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala

290 295 300
Ala Ala Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val
305 310 315 320
Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser
325 330 335
Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
340 345 350
Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

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

465 470 475 480

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

485 490 495

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

500 505 510

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

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

740 745 750

Ser Pro Gly Lys

755

<210> 178

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-EAK4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 179

<211> 766

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-EAK4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 179

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Phe Leu Asn

145 150 155 160

Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys

165 170 175

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

180 185 190

Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met

195 200 205

Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp

210 215 220

Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile

225 230 235 240

Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro

245 250 255

Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr

260 265 270

Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr

275 280 285

Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala

290 295 300

Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gln Val

305 310 315 320

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

325 330 335

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

370 375 380
Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu
385 390 395 400
Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
405 410 415
Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
420 425 430
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

435 440 445
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
450 455 460
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
465 470 475 480
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
485 490 495
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

500 505 510
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
515 520 525
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
530 535 540
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe
545 550 555 560
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

565 570 575
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

580 585 590

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

595 600 605

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

610 615 620

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

625 630 635 640

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser

645 650 655

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

660 665 670

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

675 680 685

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

690 695 700

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

705 710 715 720

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

725 730 735

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

740 745 750

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

755 760 765

<210> 180

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-EAK4-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 180

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 181

<211> 754

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-AP-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 181

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

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

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

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

245 250 255

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

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
385 390 395 400
Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
405 410 415
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
420 425 430
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
435 440 445

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
450 455 460
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
465 470 475 480
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
485 490 495

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
500 505 510

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
515 520 525
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
530 535 540
Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
545 550 555 560
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
565 570 575

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
580 585 590
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
595 600 605
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
610 615 620
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu
625 630 635 640

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
645 650 655
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
660 665 670
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
675 680 685
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
690 695 700

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
705 710 715 720
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
725 730 735
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

740 745 750

Gly Lys

<210> 182

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS1-NKG2D-AP-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 182

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 183

<211> 764

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-AP-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 183

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

1 5 10 15

Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn

20 25 30

Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala

35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu

50 55 60

Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu

65 70 75 80

Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile

85 90 95

Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys

100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr

115 120 125

Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly

130 135 140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Phe Leu Asn

145 150 155 160

Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu Ser Tyr Cys

165 170 175

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

180 185 190

Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala Ser Cys Met

195 200 205

Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu Asp Gln Asp

210 215 220

Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu Val His Ile

225 230 235 240

Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile Leu Ser Pro

245 250 255

Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys Ala Leu Tyr

260 265 270

Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr Pro Asn Thr

275 280 285

Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

290 295 300

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Gln Val Gln Leu

305 310 315 320

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

325 330 335

Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp

340 345 350

Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp

355 360 365

Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr

405 410 415

Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

465 470 475 480

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

485 490 495

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

500 505 510

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

515 520 525

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

530 535 540

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

545 550 555 560

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

565 570 575

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

580 585 590

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

595 600 605

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

610 615 620

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

625 630 635 640

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

690 695 700

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser

705 710 715 720

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

725 730 735

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

740 745 750

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

755 760

<210> 184

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> NKG2D-GS4-NKG2D-AP-HC alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 184

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 185

<211> 747

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 185

Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp

1 5 10 15

Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln

20 25 30

Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Arg Ala Lys Pro Gln Gly

35 40 45

Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr

50 55 60

Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu Arg Arg Thr Leu Thr His

65 70 75 80

Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val

85 90 95

Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg Gly Ser Arg His Phe Tyr

100 105 110

Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Ser

115 120 125

Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr

130 135 140

Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala

145 150 155 160

Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly

165 170 175

Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser

180 185 190

Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe

195 200 205

Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln

245 250 255

Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro

260 265 270

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

275 280 285

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val
325 330 335
Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr
340 345 350

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

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

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
485 490 495
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
500 505 510
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
515 520 525
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro
530 535 540

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
545 550 555 560
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

565 570 575

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

580 585 590

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

595 600 605

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

610 615 620

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

625 630 635 640

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

645 650 655

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

660 665 670

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

675 680 685

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

690 695 700

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

705 710 715 720

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

725 730 735

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740 745

<210> 186

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 186

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 187

<211> 650

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 187

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

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

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

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

245 250 255

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
385 390 395 400
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
405 410 415
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
420 425 430
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
435 440 445

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
450 455 460
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
465 470 475 480
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
485 490 495

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
500 505 510

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
515 520 525
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
530 535 540
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
545 550 555 560
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
565 570 575

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
580 585 590
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
595 600 605
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
610 615 620
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
625 630 635 640

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
645 650

<210> 188
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ULBP1-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 188
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 189

<211> 650

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 189

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

1 5 10 15

Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp

20 25 30

Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro

35 40 45

Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe

145 150 155 160

Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met

165 170 175

Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Ala Glu

180 185 190

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu

195 200 205

Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly

245 250 255

Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser

260 265 270

Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr
275 280 285
Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly
290 295 300
Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
305 310 315 320

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
385 390 395 400
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
405 410 415
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
420 425 430
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
435 440 445

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
450 455 460
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
465 470 475 480
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
485 490 495
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
500 505 510

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

515 520 525

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

530 535 540

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

545 550 555 560

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

565 570 575

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

580 585 590

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

595 600 605

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

610 615 620

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

625 630 635 640

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

645 650

<210> 190

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-EAK2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 190

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 191

<211> 744

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 191

Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp

1 5 10 15

Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln

20 25 30

Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Arg Ala Lys Pro Gln Gly

35 40 45

Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr

50 55 60

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

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

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

Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro
260 265 270
Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp Ala
275 280 285
Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
290 295 300

Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val
305 310 315 320

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

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe
385 390 395 400
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
405 410 415
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
420 425 430
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
435 440 445

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
450 455 460
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
465 470 475 480
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
485 490 495
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
500 505 510

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
515 520 525
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
530 535 540
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

545 550 555 560

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

565 570 575

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

580 585 590

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

595 600 605

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

610 615 620

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

625 630 635 640

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

645 650 655

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

660 665 670

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

675 680 685

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

690 695 700

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

705 710 715 720

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

725 730 735

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740

<210> 192

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 192

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 193

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 193

Gly Trp Val Asp Thr His Cys Leu Cys Tyr Asp Phe Ile Ile Thr Pro
1 5 10 15

Lys Ser Arg Pro Glu Pro Gln Trp Cys Glu Val Gln Gly Leu Val Asp
20 25 30

Glu Arg Pro Phe Leu His Tyr Asp Cys Val Asn His Lys Ala Lys Ala
35 40 45

Phe Ala Ser Leu Gly Lys Lys Val Asn Val Thr Lys Thr Trp Glu Glu
50 55 60

Gln Thr Glu Thr Leu Arg Asp Val Val Asp Phe Leu Lys Gly Gln Leu
65 70 75 80

Leu Asp Ile Gln Val Glu Asn Leu Ile Pro Ile Glu Pro Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu His Glu Ala His Gly His Gly Arg Gly
100 105 110

Ser Trp Gln Phe Leu Phe Asn Gly Gln Lys Phe Leu Leu Phe Asp Ser
115 120 125

Asn Asn Arg Lys Trp Thr Ala Leu His Pro Gly Ala Lys Lys Met Thr
130 135 140

Glu Lys Trp Glu Lys Asn Arg Asp Val Thr Met Phe Phe Gln Lys Ile
145 150 155 160

Ser Leu Gly Asp Cys Lys Met Trp Leu Glu Glu Phe Leu Met Tyr Trp
165 170 175

Glu Gln Met Leu Asp Pro Thr Lys Pro Pro Ser Leu Ala Pro Ala Pro
180 185 190

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro
195 200 205

Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser
210 215 220

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro
225 230 235 240
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr
245 250 255
Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr
260 265 270
Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
275 280 285

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe
290 295 300
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
305 310 315 320
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
325 330 335
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
340 345 350

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

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
420 425 430
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
435 440 445
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
450 455 460
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

465 470 475 480

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
485 490 495
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
500 505 510
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
515 520 525
Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
530 535 540

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
545 550 555 560
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
565 570 575
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
580 585 590
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
595 600 605

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
610 615 620
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
625 630 635 640
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
645

<210> 194
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ULBP1-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 194
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 195

<211> 647

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 195

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

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

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

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

Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro
225 230 235 240
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu

405 410 415

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

420 425 430

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

435 440 445

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

450 455 460

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

465 470 475 480

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

485 490 495

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
500 505 510
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
515 520 525
Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
530 535 540

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
545 550 555 560
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
565 570 575
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
580 585 590
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
595 600 605

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
610 615 620
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
625 630 635 640
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
645

<210> 196
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ULBP2-AP-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 196
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 197

<211> 741

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1-HC-AP-MICA S239D/I332E Chain 1

<400> 197

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

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

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

Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln
485 490 495
Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly
500 505 510
Asn Lys Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys

515 520 525

Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu

530 535 540

His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys Glu Ile His Glu Asp Asn Ser

545 550 555 560

Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser

565 570 575

Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala

580 585 590

Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met

595 600 605

Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met His Ala Asp Cys Leu Gln Glu

610 615 620

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

625 630 635 640

Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr

690 695 700

Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His

705 710 715 720

Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val

725 730 735

Leu Gln Ser His Trp

740

<210> 198

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1-HC-AP-MICA S239D/I332E Chain 2

<400> 198

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 199

<211> 839

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICA-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 199

Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Thr Val Leu Ser Trp Asp Gly
1 5 10 15

Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Thr Glu Val His Leu Asp Gly Gln Pro
20 25 30

Phe Leu Arg Cys Asp Arg Gln Lys Cys Arg Ala Lys Pro Gln Gly Gln
35 40 45

Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Asn Lys Thr Trp Asp Arg Glu Thr Arg
50 55 60

Asp Leu Thr Gly Asn Gly Lys Asp Leu Arg Met Thr Leu Ala His Ile
65 70 75 80

Lys Asp Gln Lys Glu Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val Cys
85 90 95

Glu Ile His Glu Asp Asn Ser Thr Arg Ser Ser Gln His Phe Tyr Tyr
100 105 110

Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Lys Glu Trp Thr
115 120 125

Met Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Arg Asn
130 135 140

Phe Leu Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr His Ala Met
145 150 155 160

His Ala Asp Cys Leu Gln Glu Leu Arg Arg Tyr Leu Lys Ser Gly Val
165 170 175

Val Leu Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Arg Ser Glu
180 185 190

Ala Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Gly Phe Tyr

195 200 205

Pro Trp Asn Ile Thr Leu Ser Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu Ser

210 215 220

His Asp Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly Thr

225 230 235 240

Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Cys Gln Gly Glu Glu Gln Arg

245 250 255

Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Ser Thr His Pro Val

260 265 270

Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser His Trp Arg Thr Val Ala

275 280 285

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

290 295 300

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

355 360 365

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

370 375 380

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro

385 390 395 400

Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser

405 410 415

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

420 425 430

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr

435 440 445

Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr
450 455 460
Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp
465 470 475 480
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe
485 490 495
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525
Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590
Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605
Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
610 615 620
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
625 630 635 640

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
645 650 655
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
660 665 670
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
675 680 685
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

690 695 700

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
705 710 715 720
Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
725 730 735
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
740 745 750
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
755 760 765

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
770 775 780
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
785 790 795 800
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
805 810 815
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
820 825 830

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
835

<210> 200
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MICA-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2
<400> 200
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

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

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

<210> 201
<211> 842
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> MICB-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 201
Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp
1 5 10 15
Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln
20 25 30

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

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

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

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

Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro
260 265 270
Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp Arg

275 280 285

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

325 330 335

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

340 345 350

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

355 360 365

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

370 375 380

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Glu

385 390 395 400

Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys

405 410 415

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

420 425 430

Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly

435 440 445

Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser

450 455 460

Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr

465 470 475 480

Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly

485 490 495

Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

500 505 510

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

515 520 525

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
530 535 540
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
545 550 555 560
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
565 570 575

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
580 585 590
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
595 600 605
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
610 615 620
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro
625 630 635 640

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
645 650 655
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
660 665 670
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
675 680 685
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
690 695 700

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
705 710 715 720
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
725 730 735
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
740 745 750
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
755 760 765

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

770 775 780

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

785 790 795 800

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

805 810 815

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

820 825 830

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

835 840

<210> 202

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 202

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 203

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 203

Gly Trp Val Asp Thr His Cys Leu Cys Tyr Asp Phe Ile Ile Thr Pro

1 5 10 15

Lys Ser Arg Pro Glu Pro Gln Trp Cys Glu Val Gln Gly Leu Val Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Thr Glu Thr Leu Arg Asp Val Val Asp Phe Leu Lys Gly Gln Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu His Glu Ala His Gly His Gly Arg Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Leu Phe Asn Gly Gln Lys Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

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

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

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

Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln
325 330 335
Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly
340 345 350
Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys
355 360 365

Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala
370 375 380

Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr
385 390 395 400
Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
405 410 415
Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
420 425 430
Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
435 440 445

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
450 455 460
Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
465 470 475 480
Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
485 490 495
Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
500 505 510

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
515 520 525
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
530 535 540
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
545 550 555 560
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
565 570 575

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
580 585 590
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
595 600 605
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

610 615 620

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

625 630 635 640

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

645 650 655

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

660 665 670

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

675 680 685

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

690 695 700

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

705 710 715 720

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

725 730 735

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

740 745

<210> 204

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 204

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 205

<211> 745

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 205

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

1 5 10 15

Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp

20 25 30

Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro

35 40 45

Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe

145 150 155 160

Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met

165 170 175

Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Arg Thr

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

260 265 270

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

275 280 285

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser
290 295 300
Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr
305 310 315 320
Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln
325 330 335
Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly
340 345 350

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

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

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
485 490 495
Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
500 505 510
Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
515 520 525
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

530 535 540

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
545 550 555 560
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
565 570 575
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
580 585 590
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
595 600 605

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
610 615 620
Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
625 630 635 640
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
645 650 655
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
660 665 670

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
675 680 685
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
690 695 700
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
705 710 715 720
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
725 730 735

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
740 745

<210> 206

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-CL-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 206

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 207

<211> 735

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<

400> 207

Ala Glu Pro His Ser Leu Arg Tyr Asn Leu Met Val Leu Ser Gln Asp

1 5 10 15

Glu Ser Val Gln Ser Gly Phe Leu Ala Glu Gly His Leu Asp Gly Gln

20 25 30

Pro Phe Leu Arg Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Arg Ala Lys Pro Gln Gly

35 40 45

Gln Trp Ala Glu Asp Val Leu Gly Ala Lys Thr Trp Asp Thr Glu Thr

50 55 60

Glu Asp Leu Thr Glu Asn Gly Gln Asp Leu Arg Arg Thr Leu Thr His

65 70 75 80

Ile Lys Asp Gln Lys Gly Gly Leu His Ser Leu Gln Glu Ile Arg Val

85 90 95

Cys Glu Ile His Glu Asp Ser Ser Thr Arg Gly Ser Arg His Phe Tyr

100 105 110

Tyr Asp Gly Glu Leu Phe Leu Ser Gln Asn Leu Glu Thr Gln Glu Ser

115 120 125

Thr Val Pro Gln Ser Ser Arg Ala Gln Thr Leu Ala Met Asn Val Thr

130 135 140

Asn Phe Trp Lys Glu Asp Ala Met Lys Thr Lys Thr His Tyr Arg Ala

145 150 155 160

Met Gln Ala Asp Cys Leu Gln Lys Leu Gln Arg Tyr Leu Lys Ser Gly

165 170 175

Val Ala Ile Arg Arg Thr Val Pro Pro Met Val Asn Val Thr Cys Ser

180 185 190

Glu Val Ser Glu Gly Asn Ile Thr Val Thr Cys Arg Ala Ser Ser Phe

195 200 205

Tyr Pro Arg Asn Ile Thr Leu Thr Trp Arg Gln Asp Gly Val Ser Leu

210 215 220

Ser His Asn Thr Gln Gln Trp Gly Asp Val Leu Pro Asp Gly Asn Gly

225 230 235 240

Thr Tyr Gln Thr Trp Val Ala Thr Arg Ile Arg Gln Gly Glu Glu Gln

245 250 255

Arg Phe Thr Cys Tyr Met Glu His Ser Gly Asn His Gly Thr His Pro

260 265 270

Val Pro Ser Gly Lys Val Leu Val Leu Gln Ser Gln Arg Thr Asp Gln

275 280 285

Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr

290 295 300

Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala

305 310 315 320

Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly

325 330 335

Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

340 345 350

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys

355 360 365

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

370 375 380

Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

385 390 395 400

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

405 410 415

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

420 425 430

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

435 440 445

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

450 455 460

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
465 470 475 480
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
485 490 495
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
500 505 510

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val
515 520 525
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
530 535 540
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
545 550 555 560
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
565 570 575

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
580 585 590
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
595 600 605
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile
610 615 620
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
625 630 635 640

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
645 650 655
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
660 665 670
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
675 680 685
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
690 695 700

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

705 710 715 720

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

725 730 735

<210> 208

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MICB-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 208

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 209

<211> 638

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 209

Gly Trp Val Asp Thr His Cys Leu Cys Tyr Asp Phe Ile Ile Thr Pro

1 5 10 15

Lys Ser Arg Pro Glu Pro Gln Trp Cys Glu Val Gln Gly Leu Val Asp

20 25 30

Glu Arg Pro Phe Leu His Tyr Asp Cys Val Asn His Lys Ala Lys Ala

35 40 45

Phe Ala Ser Leu Gly Lys Lys Val Asn Val Thr Lys Thr Trp Glu Glu

50 55 60

Gln Thr Glu Thr Leu Arg Asp Val Val Asp Phe Leu Lys Gly Gln Leu

65 70 75 80

Leu Asp Ile Gln Val Glu Asn Leu Ile Pro Ile Glu Pro Leu Thr Leu

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu His Glu Ala His Gly His Gly Arg Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Leu Phe Asn Gly Gln Lys Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Asn Asn Arg Lys Trp Thr Ala Leu His Pro Gly Ala Lys Lys Met Thr

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Lys Asn Arg Asp Val Thr Met Phe Phe Gln Lys Ile

145 150 155 160

Ser Leu Gly Asp Cys Lys Met Trp Leu Glu Glu Phe Leu Met Tyr Trp

165 170 175

Glu Gln Met Leu Asp Pro Thr Lys Pro Pro Ser Leu Ala Pro Gln Val

180 185 190

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu

195 200 205

Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile

210 215 220

Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile

225 230 235 240

Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg

245 250 255

Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu

260 265 270

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr

275 280 285

Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

290 295 300

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

305 310 315 320

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

325 330 335

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

340 345 350

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

355 360 365

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

370 375 380

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

385 390 395 400

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

405 410 415

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe

420 425 430

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

435 440 445

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

450 455 460

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

465 470 475 480

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

485 490 495

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

500 505 510

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser

515 520 525

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

530 535 540

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

545 550 555 560

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

565 570 575

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

580 585 590

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

595 600 605

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

610 615 620

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

625 630 635

<210> 210

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP1-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 210

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 211

<211> 638

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 1

<400> 211

Gly Arg Ala Asp Pro His Ser Leu Cys Tyr Asp Ile Thr Val Ile Pro
1 5 10 15

Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp
20 25 30

Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro
35 40 45

Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala
50 55 60

Gln Asn Pro Val Leu Arg Glu Val Val Asp Ile Leu Thr Glu Gln Leu
65 70 75 80

Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu
85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly
100 105 110

Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser
115 120 125

Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys
130 135 140

Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe
145 150 155 160

Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met
165 170 175

Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Gln Val
180 185 190

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu
195 200 205
Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile
210 215 220
Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile
225 230 235 240

Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg
245 250 255
Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu
260 265 270
Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr
275 280 285
Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
290 295 300

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
305 310 315 320
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
325 330 335
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
340 345 350
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
355 360 365

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
370 375 380
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
385 390 395 400
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
405 410 415
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe
420 425 430

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

435 440 445

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

450 455 460

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

465 470 475 480

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

485 490 495

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

500 505 510

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser

515 520 525

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

530 535 540

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

545 550 555 560

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

565 570 575

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

580 585 590

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

595 600 605

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

610 615 620

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

625 630 635

<210> 212

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-HC- alpha-PDGFRb 1 S239D/I332E Chain 2

<400> 212

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 213

<211> 638

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-HC- alpha-PDGFRb 1 L234A/L235A Chain 1

<400> 213

Gly Arg Ala Asp Pro His Ser Leu Cys Tyr Asp Ile Thr Val Ile Pro

1 5 10 15

Lys Phe Arg Pro Gly Pro Arg Trp Cys Ala Val Gln Gly Gln Val Asp

20 25 30

Glu Lys Thr Phe Leu His Tyr Asp Cys Gly Asn Lys Thr Val Thr Pro

35 40 45

Val Ser Pro Leu Gly Lys Lys Leu Asn Val Thr Thr Ala Trp Lys Ala

50 55 60

Gln Asn Pro Val Leu Arg Glu Val Val Asp Ile Leu Thr Glu Gln Leu

65 70 75 80

Arg Asp Ile Gln Leu Glu Asn Tyr Thr Pro Lys Glu Pro Leu Thr Leu

85 90 95

Gln Ala Arg Met Ser Cys Glu Gln Lys Ala Glu Gly His Ser Ser Gly

100 105 110

Ser Trp Gln Phe Ser Phe Asp Gly Gln Ile Phe Leu Leu Phe Asp Ser

115 120 125

Glu Lys Arg Met Trp Thr Thr Val His Pro Gly Ala Arg Lys Met Lys

130 135 140

Glu Lys Trp Glu Asn Asp Lys Val Val Ala Met Ser Phe His Tyr Phe

145 150 155 160

Ser Met Gly Asp Cys Ile Gly Trp Leu Glu Asp Phe Leu Met Gly Met

165 170 175

Asp Ser Thr Leu Glu Pro Ser Ala Gly Ala Pro Leu Ala Met Gln Val

180 185 190

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu

195 200 205

Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Ala Ile

210 215 220

Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Ile

225 230 235 240

Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg

245 250 255

Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys Leu

260 265 270

Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr

275 280 285

Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

290 295 300

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

305 310 315 320

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

325 330 335

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

340 345 350

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

355 360 365

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

370 375 380

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

385 390 395 400

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

405 410 415

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe

420 425 430

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

435 440 445

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

450 455 460

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

465 470 475 480

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

485 490 495

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

500 505 510

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

515 520 525

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

530 535 540

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

545 550 555 560

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

565 570 575

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

580 585 590

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

595 600 605

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

610 615 620

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

625 630 635

<210> 214

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ULBP2-HC- alpha-PDGFRb 1 L234A/L235A Chain 2

<400> 214

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 215

<211> 678

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 N297S Chain 1

<400

> 215

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser

435 440 445

Thr Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

450 455 460

Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

465 470 475 480

Thr Asp Tyr Val Ile Asn Trp Gly Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

485 490 495

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Tyr Asn

500 505 510

Glu Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser

515 520 525

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
530 535 540
Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Arg Tyr Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr
545 550 555 560
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Arg Thr Val Ala Ala
565 570 575

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
580 585 590
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
595 600 605
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
610 615 620
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
625 630 635 640

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
645 650 655
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
660 665 670
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
675
<210> 216
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 N297S Chain 2
<400> 216
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 217

<211> 205

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 N297S Chain 3

<400> 217

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Arg Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ala Ser Thr Lys Gly

100 105 110

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

115 120 125

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

130 135 140

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

145 150 155 160

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

165 170 175

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val

180 185 190

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val

195 200 205

<210> 218

<211> 678

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 S239D/I332E Chain 1

<400> 218

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ser
435 440 445
Thr Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
450 455 460
Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

465 470 475 480
Thr Asp Tyr Val Ile Asn Trp Gly Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
485 490 495
Glu Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Thr Asn Tyr Tyr Asn
500 505 510
Glu Lys Phe Lys Ala Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
515 520 525
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val

530 535 540

Tyr Phe Cys Ala Arg Arg Gly Arg Tyr Gly Leu Tyr Ala Met Asp Tyr

545 550 555 560

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Arg Thr Val Ala Ala

565 570 575

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

580 585 590

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

595 600 605

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

610 615 620

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

625 630 635 640

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

645 650 655

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

660 665 670

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

675

<210> 219

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 S239D/I332E Chain 2

<400> 219

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 220
<211> 205
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1 - alpha-NKp46 S239D/I332E Chain 3
<400> 220
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Arg Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ala Ser Thr Lys Gly
100 105 110
Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly
115 120 125
Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val
130 135 140

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
145 150 155 160
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
165 170 175
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val
180 185 190
Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
195 200 205
<210> 221

<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1 - NA N297S Chain 1
<400> 221
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 222
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1 - NA N297S Chain 2
<400> 222
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 223

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1 - NA S239D/I332E Chain 1

<400> 223

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr

20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 224
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1 - NA S239D/I332E Chain 2

<400> 224
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30
Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 225
<211> 117
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) VH
<400> 225
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Pro Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Gly Glu Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Thr Asp Tyr Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 226

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) VL

<400> 226

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Val Val Ser Val Ala Leu Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Ser Ile Thr Cys Gln Gly Asp Asn Leu Arg Asp Phe Tyr Ala

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Met Tyr

35 40 45

Gly Lys Asn Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Thr Ser Gly Asn Thr Leu Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Asn Ser Lys His Val

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105

<210> 227

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) HCDR1

<400> 227

Ser Tyr Ala Ile Ser

1 5

<210> 228

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) HCDR2

<400> 228

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 229

<211> 8

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) HCDR3

<400> 229

Asp Thr Asp Tyr Met Phe Asp Tyr

1 5

<210> 230

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) LCDR1

<400> 230

Gln Gly Asp Asn Leu Arg Asp Phe Tyr Ala Ser

1 5 10

<210> 231

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) LCDR2

<400> 231

Gly Lys Asn Arg Arg Pro Ser

1 5

<210> 232

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 1) LCDR3

<400> 232

Ser Ser Arg Asp Asn Ser Lys His Val Val

1 5 10

<210> 233

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) VH

<400> 233

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Pro Gly Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Tyr Ser Asn Asp Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Phe Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 234

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) VL

<400

> 234

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Gly Ile Tyr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ile Thr Ser Leu Val

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 235

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) HCDR1

<400> 235

Thr Ser Gly Gly Gly Val Ser

1 5

<210> 236

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) HCDR2

<400> 236

His Ile Tyr Ser Asn Asp Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Thr

1 5 10 15

<210> 237

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) HCDR3

<400> 237

Gly Gly Tyr Phe Leu Asp Tyr

1 5

<210> 238

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) LCDR1

<400> 238

Ser Gly Asp Asn Ile Gly Gly Ile Tyr Val His

1 5 10

<210> 239

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) LCDR2

<400> 239

Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-ANTXR1 antibody (alpha-ANTXR1 2) LCDR3

<400> 240

Gln Ser Tyr Asp Ile Thr Ser Leu Val

1 5

<210> 241

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) VH

<400> 241

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Gly Tyr

20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Met Ile Trp Val Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Asn Ile Ser Lys Asp Lys Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 242

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) VL

<400> 242

Asp Ile Gln Met Asn Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ile Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ile Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 243

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) HCDR1

<400> 243

Gly Tyr Gly Val Asn

1 5

<210> 244

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) HCDR2

<400> 244

Met Ile Trp Val Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 245

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) HCDR3

<400> 245

Gly Gly Tyr Gly Ala Met Asp Tyr

1 5

<210> 246

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) LCDR1

<400> 246

His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp Leu Thr

1 5 10

<210> 247

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) LCDR2

<400> 247

Lys Ala Ser Asn Leu His Thr

1 5

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 1) LCDR3

<400> 248

Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 249

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) VH

<400> 249

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Asn Ser Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Tyr Ser Met Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Ser Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 250

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) VL

<400> 250

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Leu Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Asn Tyr Pro Met

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys

100 105

<210> 251

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) HCDR1

<400> 251

Asp Tyr Val Ile His

1 5

<210> 252

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) HCDR2

<400> 252

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 253

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) HCDR3

<400> 253

Arg Gly Asn Ser Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Tyr Ser Met Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 254

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) LCDR1

<400> 254

Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 255

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) LCDR2

<400> 255

Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr

1 5

<210> 256

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-CD248 antibody (alpha-CD248 2) LCDR3

<400> 256

Gln Gln Tyr Thr Asn Tyr Pro Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 257

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) VH

<400> 257

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Lys Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ala

115

<210> 258

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) VL

<400> 258

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn

85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 259

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) HCDR1

<400> 259

Asp Tyr Glu Met His

1 5

<210> 260

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) HCDR2

<400> 260

Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 261

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) HCDR3

<400> 261

Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr

1 5

<210> 262

<211> 16

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) LCDR1

<400> 262

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 263

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) LCDR2

<400> 263

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-GPC3 antibody (alpha-GPC3 1) LCDR3

<400> 264

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 265

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) VH

<400> 265

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala

50 55 60

Val Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95

Phe Tyr Cys Thr Arg Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro
100 105 110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 266
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) VL
<400> 266
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Thr Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 267
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) HCDR1

<400> 267

Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn

1 5

<210> 268

<211> 18

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) HCDR2

<400> 268

Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala Val Ser Val

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 269

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) HCDR3

<400> 269

Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 270

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) LCDR1

<400> 270

Lys Ser Ser Gln Thr Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 271

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) LCDR2

<400> 271

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 272

<211

> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-TIGIT antibody (alpha-TIGIT 1) LCDR3

<400> 272

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 273

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) VH

<400> 273

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Asn Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Lys Thr Ala Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 274

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) VL

<400> 274

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Val Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Thr Asn Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 275

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) HCDR1

<400> 275

Asp Tyr Asn Ile Asn

1 5

<210> 276

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) HCDR2

<400> 276

Tyr Ile Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) HCDR3

<400> 277

Glu Asp Lys Thr Ala Arg Asn Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 278

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) LCDR1

<400> 278

Arg Val Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 279

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) LCDR2

<400> 279

Glu Ala Thr Asn Leu Ala Glu

1 5

<210> 280

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Exemplary anti-PVRIG antibody (alpha-PVRIG 1) LCDR3

<400> 280

Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 281

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-ANTXR1 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 281

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Thr

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Pro Gly Tyr Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Gly Glu Glu Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Thr Asp Tyr Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp
180 185 190
Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val
225 230 235 240

Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
245 250 255
Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
260 265 270
Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
275 280 285
Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
290 295 300

Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
340 345 350
Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
355 360 365

Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn
370 375 380
Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn

405 410 415

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu

420 425 430

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 282

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-ANTXR1 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 2

<400> 282

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Val Val Ser Val Ala Leu Gly Glu

1 5 10 15

Thr Val Ser Ile Thr Cys Gln Gly Asp Asn Leu Arg Asp Phe Tyr Ala

20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Met Tyr

35 40 45

Gly Lys Asn Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Thr Ser Gly Asn Thr Leu Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Asn Ser Lys His Val

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ser

100 105 110

Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Glu Thr

115 120 125

Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Val

130 135 140

Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val Thr Gln Gly Met

145 150 155 160

Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Met Ala Ser

165 170 175

Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg His Ser Ser Tyr

180 185 190

Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu Lys Ser Leu Ser

195 200 205

Arg Ala Asp Cys Ser

210

<210> 283

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> alpha-ANTXR1 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 283

Gln Val Gln Leu Lys Glu Ser Pro Gly Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Tyr Ser Asn Asp Asp Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

Leu Lys Thr Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Phe Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys
130 135 140
Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser
145 150 155 160
Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175
Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp

180 185 190
Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys
210 215 220
Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val
225 230 235 240
Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser

245 250 255
Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp
260 265 270
Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln
275 280 285
Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser
290 295 300
Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys

305 310 315 320
Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
340 345 350
Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met
355 360 365
Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn

370 375 380

Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn

405 410 415

Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu

420 425 430

His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 284

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-ANTXR1 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 2

<400> 284

Asp Ile Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Gly Ile Tyr Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Ala Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ile Thr Ser Leu Val

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ser Ser

100 105 110

Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Glu Thr Asn

115 120 125

Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe Tyr Pro Gly Val Val

130 135 140

Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val Thr Gln Gly Met Glu

145 150 155 160

Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Met Ala Ser Ser

165 170 175

Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg His Ser Ser Tyr Ser

180 185 190

Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu Lys Ser Leu Ser Arg

195 200 205

Ala Asp Cys Ser

210

<210> 285

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-CD248 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 285

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro Ser Gln

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Gly Tyr

20 25 30

Gly Val Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

Gly Met Ile Trp Val Asp Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Leu Asn Ile Ser Lys Asp Lys Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Arg Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Gly Tyr Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp

165 170 175

Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro

180 185 190

Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys

195 200 205

Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe

225 230 235 240

Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro

245 250 255

Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val

260 265 270

Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr

275 280 285

Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala

290 295 300

Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro

340 345 350

Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val

355 360 365

Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly

370 375 380

Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp

405 410 415

Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His

420 425 430

Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 286

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-CD248 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 2

<400> 286

Asp Ile Gln Met Asn Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Thr Ile Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ile Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala

100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly

115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile

130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu

145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr

180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210

<210> 287

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-CD248 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 287

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Val Ile His Trp Val Lys Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asp Asp Asp Thr Thr Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Leu Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Asn Ser Tyr Asp Gly Tyr Phe Asp Tyr Ser Met Asp

100 105 110

Tyr Trp Gly Ser Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr

115 120 125

Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly

130 135 140

Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro

145 150 155 160

Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr

165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val

180 185 190

Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val

195 200 205

Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg

210 215 220

Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn

225 230 235 240

Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp

245 250 255

Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp

260 265 270

Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn

275 280 285

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn

290 295 300

Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp

305 310 315 320

Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro

325 330 335

Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala

340 345 350

Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
355 360 365
Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile
370 375 380
Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn
385 390 395 400

Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys
420 425 430
Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe
435 440 445
Ser Arg Thr Pro Gly Lys
450
<210> 288
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-CD248 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 2
<400> 288
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr Ala
20 25 30
Val Ala Trp Leu Gln Gln Thr Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Thr Asn Tyr Pro Met
85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys Arg Ala Asp Ala

100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser

115 120 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp

130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val

145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser

180 185 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215

<210> 289

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-GPC3 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 289

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Glu Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Val His Gly Leu Lys Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110
Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro
115 120 125
Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser
145 150 155 160
Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu
165 170 175
Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser
180 185 190
Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val
195 200 205

Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro
210 215 220
Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln
260 265 270

Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln
275 280 285
Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu
290 295 300
Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro
340 345 350
Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr
355 360 365
Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys
370 375 380
Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val
405 410 415
Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn
420 425 430
His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440 445
<210> 290
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-GPC3 1 mIgG2a S239D/I332E Chain 2
<400> 290
Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15
Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn

85 90 95

Thr His Val Pro Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu

115 120 125

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg

145 150 155 160

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu

180 185 190

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser

195 200 205

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

210 215

<210> 291

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-SIRPA 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 1

<400> 291

Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Thr Gly Ser Gly Phe Asn Phe Lys Asp Met

20 25 30

Tyr Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Ser Thr Lys Tyr Asp Pro Lys Phe

50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ala Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Ile Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asn Tyr Val His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val

100 105 110

Ser Ala Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val

115 120 125

Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys

130 135 140

Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu

145 150 155 160

Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr

165 170 175

Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln

180 185 190

Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp

195 200 205

Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe

225 230 235 240

Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile

260 265 270

Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr

275 280 285

His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro

290 295 300

Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val
305 310 315 320
Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Glu Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro
325 330 335
Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu
340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp
355 360 365
Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr
370 375 380
Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu
405 410 415

Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His
420 425 430
His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
435 440
<210> 292
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-SIRPA 2 mIgG2a S239D/I332E Chain 2
<400> 292
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Gln Tyr Tyr

20 25 30
Gly Thr Ser Leu Met Gln Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Val Gly Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Asp Asp Ile Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Thr Arg

85 90 95
Arg Val Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala
100 105 110
Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu
115 120 125
Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn

145 150 155 160
Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His
180 185 190
Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile
195 200 205
Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
210 215

<210> 293
<211> 456
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-TIGIT 1 IgG1 Chain 1
<400> 293
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Tyr Tyr Arg Phe Lys Trp Tyr Ser Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Gly Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95
Phe Tyr Cys Thr Arg Glu Ser Thr Thr Tyr Asp Leu Leu Ala Gly Pro
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455
<210> 294
<211> 220
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-TIGIT 1 IgG1 Chain 2
<400> 294
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Thr Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Lys Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

115 120 125

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

130 135 140

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

165 170 175

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

180 185 190

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

195 200 205

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215 220

<210> 295

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PVRIG 1 IgG4 Chain 1

<400> 295

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Asn Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Ser Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Glu Asp Lys Thr Ala Arg Asn Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445
<210> 296
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PVRIG 1 IgG4 Chain 2
<400> 296
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Val Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Thr Asn Leu Ala Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Gly Thr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 297

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E Chain 1

<400> 297

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Ile Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Thr Gly Thr Arg Gly Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
355 360 365
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 298
<211> 537
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> alpha-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E Chain 2
<400> 298

Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro Leu Thr Glu
1 5 10 15
Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr Lys Asn Asn
20 25 30
Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu Ser Gln Ala
35 40 45

Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr Ser Lys Glu
50 55 60
Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp Met Gly Leu
65 70 75 80
Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp Gly Ser Ile
85 90 95
Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys Gly Asp Cys
100 105 110

Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn Cys Ser Thr
115 120 125
Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Phe Leu Asn Ser Leu Phe Asn Gln Glu Val Gln Ile Pro
145 150 155 160
Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Gly Pro Cys Pro Lys Asn Trp Ile Cys Tyr
165 170 175

Lys Asn Asn Cys Tyr Gln Phe Phe Asp Glu Ser Lys Asn Trp Tyr Glu
180 185 190
Ser Gln Ala Ser Cys Met Ser Gln Asn Ala Ser Leu Leu Lys Val Tyr
195 200 205
Ser Lys Glu Asp Gln Asp Leu Leu Lys Leu Val Lys Ser Tyr His Trp
210 215 220
Met Gly Leu Val His Ile Pro Thr Asn Gly Ser Trp Gln Trp Glu Asp
225 230 235 240

Gly Ser Ile Leu Ser Pro Asn Leu Leu Thr Ile Ile Glu Met Gln Lys

245 250 255

Gly Asp Cys Ala Leu Tyr Ala Ser Ser Phe Lys Gly Tyr Ile Glu Asn

260 265 270

Cys Ser Thr Pro Asn Thr Tyr Ile Cys Met Gln Arg Thr Val Gly Gly

275 280 285

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

290 295 300

Gly Ser Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

305 310 315 320

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

325 330 335

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

340 345 350

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

355 360 365

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

370 375 380

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

385 390 395 400

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

405 410 415

Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

420 425 430

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu

435 440 445

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

450 455 460

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

465 470 475 480

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

485 490 495

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

500 505 510

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

515 520 525

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

530 535

<210> 299

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> alpha-PDGFRb 1-NKG2D KIH S239D/I332E Chain 3

<400> 299

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp

20 25 30

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Phe Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210