(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0043583
(43) 공개일자 2021년04월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2887 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7004259
(22) 출원일자(국제) 2019년07월11일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년02월10일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/041492
(87) 국제공개번호 WO 2020/014545
국제공개일자 2020년01월16일
(30) 우선권주장
62/696,708 2018년07월11일 미국(US)

(71) 출원인
모멘타 파머슈티컬스 인코포레이티드
미국 메사추세츠 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
(72) 발명자
란싱 조나단 씨.
미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
오티즈 다니엘
미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
굽타 아브히나브
미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
(74) 대리인
장훈

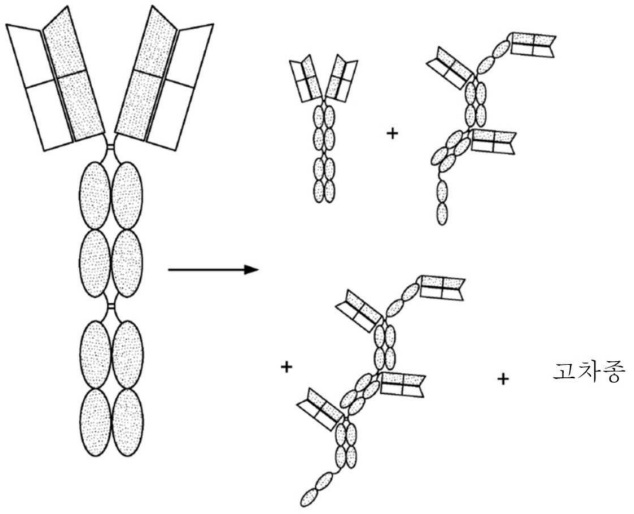
전체 청구항 수 : 총 244 항

(54) 발명의 명칭 **조작된 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 관련된 조성물 및 방법**

(57) 요 약

본 발명은 Fc-항원 결합 도메인 작제물이 적어도 2개의 Fc 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 포함하는 유전자 조작 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 조성물 및 방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 2317/41 (2013.01)
C07K 2317/524 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/64 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/734 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

항원 결합 도메인; 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되,

적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고,

적어도 하나의 다른 Fc 도메인 단량체는 적어도 1, 2 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 3

제1항에 있어서, 항원 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 4

제1항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 5

5. 제1항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 6

제1항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 7

제1항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 8

제1항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 9

제1항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 10

제1항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 각각 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 11

제1항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 각각 동일한 돌출부-형성 돌연변이를 갖는, 폴리펩티드.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 각각 동일한 역전하 돌연변이를 갖는, 폴리펩티드.

청구항 14

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 15

제14항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는, 역전하 돌연변이를 포함하지만 돌출부-형성 돌연변이를 포함하지 않는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이(들)와 상이한 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 역전하 돌연변이는 CH3 도메인에 있는, 폴리펩티드.

청구항 17

제16항에 있어서, 돌연변이는 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 돌연변이는 단일 아미노산 변화인, 폴리펩티드.

청구항 19

제1항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 20

제1항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 글리신 스페이서인, 폴리펩티드.

청구항 21

제1항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 독립적으로 4 내지 30개, 4 내지 20개, 8 내지 30개, 8 내지 20개, 12 내지 20개 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 22

제1항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 24

제23항에 있어서, EU 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 25

제24항에 있어서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A인, 폴리펩티드.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 27

제26항에 있어서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 치환은 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 28

제27항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P인, 폴리펩티드.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 30

제29항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 31

제29항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 32

제29항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 34

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 35

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 36

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 아미노산 서열
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 37

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 38

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 39

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 40

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 41

제33항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 42

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 43

제42항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌

출부를 형성하는 돌연변이인, 폴리펩티드.

청구항 44

제42항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 45

제1항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T, 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 46

제1항, 제4항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 47

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 scFv인, 폴리펩티드.

청구항 48

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 49

제48항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 50

제48항에 있어서, VH 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 51

제48항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 52

제48항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 53

제48항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 54

제48항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 55

제48항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 56

제48항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는

VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 57

제48항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 58

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 59

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있는, 폴리펩티드.

청구항 60

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 제1항 내지 제59항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하되, 상기 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인과 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 61

제60항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 62

제61항에 있어서, 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 63

제61항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 64

제63항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 65

제60항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드 복합체는 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드에 추가로 연결되고, 상기 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제3 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되며, 제2 및 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 상이한 IgG1 Fc 도메인 단량체에 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 66

제65항에 있어서, 제3 폴리펩티드 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 67

제66항에 있어서, 적어도 2개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R,

E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 68

제65항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되며, 제2 및 제3 폴리펩티드 단량체는 상이한 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 69

제60항 내지 제68항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 70

제65항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 71

제60항 내지 제69항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체는 및 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 72

제71항에 있어서, S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체는 E357K 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 73

제65항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 74

제73항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 K370D 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 75

제65항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 76

제65항 또는 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 77

제60항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드 복합체는 단일 Fc 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드 복합체에 비해, 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 78

힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드로서,

적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고,

적어도 하나의 다른 Fc 도메인 단량체는 적어도 1, 2, 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 79

제78항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 80

제78항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 81

제78항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 82

제78항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 83

제78항에 있어서, 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 84

제78항에 있어서, 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 85

제78항에 있어서, 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 각각 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 86

제78항에 있어서, 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 87

제78항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 동일한 돌출부-형성 돌연변이를 각각 갖는, 폴리펩티드.

청구항 88

제78항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서, 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는 동일한 역전하 돌연변이를 각각 갖는, 폴리펩티드.

청구항 89

제78항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 90

제14항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는, 역전하 돌연변이를 포함하지만 돌출부-형성 돌연변이를 포함하지 않는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이(들)와 상이한 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 91

제78항 내지 제90항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 역전하 돌연변이는 CH3 도메인에 있는, 폴리펩티드.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 돌연변이들은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 93

제78항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 돌연변이들은 단일 아미노산 변화인, 폴리펩티드.

청구항 94

제78항에 있어서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는

GGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 95

제78항에 있어서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 글리신 스페이서인, 폴리펩티드.

청구항 96

제78항에 있어서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 독립적으로 4 내지 30개, 4 내지 20개, 8 내지 30개, 8 내지 20개, 12 내지 20개, 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 97

제78항에 있어서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 98

제78항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 99

(내용 없음)

청구항 100

제98항에 있어서, EU 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W, 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 101

제100항에 있어서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A인, 폴리펩티드.

청구항 102

제78항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 103

제102항에 있어서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T, 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 104

제103항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P인, 폴리펩티드.

청구항 105

제78항 내지 제104항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진, 폴리펩티드.

청구항 106

제106항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 107

제106항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 108

108. 제106항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제2 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 109

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 110

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 111

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 112

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 아미노산 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 113

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 114

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 115

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 116

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 117

제109항 내지 제116항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 118

제78항 내지 제108항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 119

제118항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이인, 폴리펩티드.

청구항 120

제118항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 121

제78항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T, 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 122

제78항 내지 제91항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E,

K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 123

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 제78항 내지 제122항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하되, 상기 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 124

제123항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 125

제124항에 있어서, 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 126

제124항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 127

제126항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 128

제123항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드 복합체는 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드에 추가로 연결되고, 상기 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2, 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제3 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되고, 제2 및 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 상이한 IgG1 Fc 도메인 단량체에 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 129

제128항에 있어서, 제3 폴리펩티드 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 130

제129항에 있어서, 적어도 2개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 131

제128항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하며, 제2 및 제3 폴리펩티드 단량체는 상이한 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 132

제123항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 133

제128항 내지 제132항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 134

제123항 내지 제132항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 폴리펩티드는 S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체 및 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 135

제134항에 있어서, S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체는 E357K 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 136

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 137

제136항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 K370D 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 138

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 139

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 140

제128항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 항원 결합 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 141

제128항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 제3 폴리펩티드는 항원 결합 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 142

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 143

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 144

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 scFv인, 폴리펩티드 복합체.

청구항 145

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 146

제145항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 147

제145항에 있어서, VH 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 148

148. 제145항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 149

제145항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드 복합체.

청구항 150

제145항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 151

제145항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 152

제145항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 153

제145항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드 복합체.

청구항 154

제145항에 있어서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 155

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 156

제140항 또는 제141항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 157

제123항 내지 제139항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 제1 항원 결합 도메인을 추가로 포함하고, 제3 폴리펩티드는 제2 항원 결합 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 158

제123항 내지 제157항 중 어느 한 항에 있어서, 폴리펩티드 복합체는 단일 Fc 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드 복합체에 비해, 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 159

제1항 내지 제158항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자.

청구항 160

제159항의 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 161

제159항의 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포.

청구항 162

제160항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 163

제1항 내지 제158항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 제조하는 방법으로서, 폴리펩티드를 발현하는 조건 하에서 제161항 또는 제162항의 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 164

제161항에 있어서, 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 165

제162항에 있어서, 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 166

제161항에 있어서, 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 167

제162항에 있어서, 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 168

제161항에 있어서, 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 169

제162항에 있어서, 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 170

제168항 또는 제169항에 있어서, IgG1 Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에서 10개, 8개, 6개, 또는 4개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 서열 번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 숙주 세포.

청구항 171

제1항 내지 제158항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 172

제171항에 있어서, 상기 폴리펩티드의 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 2% 미만은 Fc 도메인 단량체에 대해 적어도 하나의 푸코스 변형을 갖는, 약학적 조성물.

청구항 173

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 다음을 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

iv) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

d) 제1 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고;

제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며;

제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 174

제173항에 있어서, 상기 링커는

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 175

제173항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 176

제175항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 177

제175항 및 제176항에 있어서, 돌연변이는 단일 아미노산 변화인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 178

제175항 및 제176항에 있어서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 179

제178항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 180

제179항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 181

제175항 및 제176항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 182

제175항 및 제176항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 183

제175항 내지 제182항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 184

제175항 내지 제183항 중 어느 한 항에 있어서, 제4 Fc 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 185

제175항 내지 제184항 중 어느 한 항에 있어서, 제5 Fc 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 186

제173항 내지 제185항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 Fab인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 187

제173항 내지 제185항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 scFv인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 188

제173항 내지 제185항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 189

제188항에 있어서, 항원 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 190

제188항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하는, Fc-항원

결합 도메인 작제물.

청구항 191

제188항에 있어서, V_H 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 192

제188항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 193

제188항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일한, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 194

제188항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 195

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 다음을 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

iv) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

d) 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고;

제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며;

제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 196

제195항에 있어서, 상기 링커는

GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGG제G, GGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 197

제195항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 198

제197항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 199

제197항 및 제198항에 있어서, 돌연변이는 단일 아미노산 변화인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 200

제197항 및 제198항에 있어서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 201

제200항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 202

제201항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 203

203. 제197항 및 제198항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 204

제197항 및 제198항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 205

제195항 내지 제204항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 206

제195항 내지 제205항 중 어느 한 항에 있어서, 제4 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 207

제195항 내지 제206항 중 어느 한 항에 있어서, 제5 Fc 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 208

제195항 내지 제207항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 Fab인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 209

제195항 내지 제207항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 scFv인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 210

제195항 내지 제207항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 211

제210항에 있어서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 212

제210항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 VL 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 213

제210항에 있어서, VH 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 214

제210항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 215

제210항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 동일한, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 216

제210항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 217

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 다음을 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

iv) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

d) 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고;

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며,

제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 218

제217항에 있어서, 상기 링커는

GGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 219

제217항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 220

제219항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 221

제219항 및 제220항에 있어서, 돌연변이는 단일 아미노산 변화인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 222

제219항 및 제220항에 있어서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 223

제222항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 또는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 224

제223항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 225

제219항 및 제220항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 226

제219항 및 제220항에 있어서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 227

제219항 내지 제226항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 포함하고, 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 228

제219항 내지 제227항 중 어느 한 항에 있어서, 제4 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌

연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 229

제219항 내지 제228항 중 어느 한 항에 있어서, 제5 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 230

제217항 내지 제229항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 Fab인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 231

제217항 내지 제229항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 scFv인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 232

제217항 내지 제229항 중 어느 한 항에 있어서, 항원 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 233

제232항에 있어서, 항원 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 234

제232항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 235

제232항에 있어서, V_H 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 236

제232항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 237

제232항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일한, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 238

제232항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 239

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서, 상기 방법은

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

(2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

(3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

(4) 항원 결합 도메인을 발현하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고;

항원 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하는 단계; 및

b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 240

제239항에 있어서, 몰 기준으로, 세포 배양 상청액 중 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50%는 구조적으로 동일한, 방법.

청구항 241

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서, 상기 방법은

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

(2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

(3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

(4) 항원 결합 도메인을 발현하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고;

항원 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하는 단계; 및

b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 242

제241항에 있어서, 몰 기준으로, 세포 배양 상청액 중 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50%는 구조적으로 동일한, 방법.

청구항 243

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서, 상기 방법은

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체,

ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커, 및

v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커;

(2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드;

(3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및

(4) 항원 결합 도메인을 발현하되,

제1 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고,

항원 결합 도메인은 제3 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하는 단계; 및

b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 244

제243항에 있어서, 몰 기준으로, 세포 배양 상청액 중 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50%는 구조적으로 동일한, 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] 많은 치료 항체는 항체 의존성 세포독성(ADCC), 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및 보체 의존성 세포독성(CDC)과 같은 Fc 도메인의 효과기 기능을 통해 선천적 면역계의 요소를 보충함으로써 작용한다. 개선된 치료 단백질에 대한 요구가 지속적으로 제기되고 있다.

발명의 내용

[0002] 본 발명은 항원 결합 도메인의 표적 특이성을 적어도 2개의 Fc 도메인과 결합하여 고유의 생물학적 활성을 갖는 새로운 치료제를 생성하기 위한 조성물 및 방법을 특징으로 한다. 본원에 기재된 조성물 및 방법은 다중 항원 결합 도메인 및 다중 폴리펩티드 사슬로부터의 다중 Fc 도메인을 갖는 단백질의 구축을 가능하게 한다. 항원 결합 도메인의 수 및 간격은 표적 항원에 대한 단백질 복합체의 결합 특성(예를 들어, 결합 친화력)을 변경하도록 조정될 수 있고, Fc 도메인의 수는 항원 결합 세포를 사멸시키는 효과기 기능의 크기를 제어하도록 조정될 수 있다. 돌연변이(즉, 본원에 기재된 바와 같은 이종이량체화 및/또는 동종이량체화 돌연변이)는 생성되는 원치 않는, 대안적으로 조립된 단백질의 수를 감소시키기 위해 폴리펩티드에 도입된다. 일부 경우에, 이종이량체화 또는 동종이량체화 돌연변이는 Fc 도메인 단량체에 도입되고, 차별적으로 돌연변이된 Fc 도메인 단량체는 폴리펩티드 사슬이 원하는 단백질 구조물로 조립되도록 제어하기 위해, 단백질로 조립되는 상이한 폴리펩티드 사슬 사이에 배치된다. 이러한 돌연변이는 특정 Fc 도메인 단량체의 원하는 페어링을 선택적으로 안정화하고, 다른 Fc 도메인 단량체의 원치 않는 페어링을 선택적으로 불안정하게 한다. 일부 경우에, Fc-항원 결합 도메인 작제

물은 Fc 단량체 중 적어도 2개가 상이한 이종이량체화 돌연변이를 함유하는(이에 따라 서열이 서로 다른) 다중 Fc 도메인 단량체를 함유하는 제1 폴리펩티드, 예를 들어, 상이한 이종이량체화 돌연변이를 갖는 2개 이상의 Fc 단량체를 갖는 더 긴 폴리펩티드, 및 각각 적어도 하나의 Fc 단량체를 함유하는 적어도 2개의 추가 폴리펩티드(추가 폴리펩티드의 Fc 단량체는 서로 상이한 이종이량체화 돌연변이(및 이에 따라 상이한 서열)를 함유함), 예를 들어 각각 상이한 이종이량체화 돌연변이를 갖는 단일 Fc 도메인 단량체를 함유하는 2개의 더 짧은 폴리펩티드에 의해 형성되는 "직교" Fc-항원 결합 도메인 작제물이다. 추가 폴리펩티드의 이종이량체화 돌연변이는 제1 폴리펩티드의 적어도 Fc 단량체의 이종이량체화 돌연변이와 양립할 수 있다.

[0003] 일부 경우에, 본 발명은 신규한 치료 작제물을 생성하기 위해 치료 단백질의 항원 결합 도메인을 Fc 도메인과 조합하는 것, 예를 들어, 알려진 치료 항체를 적어도 2개의 Fc 도메인과 조합하는 것을 고려한다. 이러한 작제물을 생성하기 위해, 본 개시는 적어도 2개의, 예를 들어 다수의 Fc 도메인을 갖는 작제물을 조립하는 방법, 및 제한된 수의 폴리펩티드 사슬로부터 개별 크기의 분자를 조립하기 위해 이러한 Fc 도메인의 동종이량체화 및 이종이량체화를 제어하기 위한 다양한 방법을 제공하며, 이러한 폴리펩티드 또한 본 발명의 대상이다. 이들 작제물의 특성은 실질적으로 균질한 약학적 조성물의 효율적인 생성을 가능하게 한다. 약학적 조성물에서의 이러한 균질성은 약학적 조성물의 안전성, 효능, 균일성 및 신뢰성을 보장하기 위해 바람직하다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 적어도 2개의 Fc 도메인을 갖는 신규 치료 작제물은 단일 Fc 도메인을 갖는 치료 단백질보다 더 큰 생물학적 활성을 갖는다.

[0004] 제1 양태에서, 본 발명은 적어도 하나의 항원 결합 도메인, 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 작제물은 강화된 효과기 기능을 포함하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 적어도 하나의 항원 결합 도메인, 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 항원 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 갖는다.

[0005] 하나의 양태에서, 본 발명은 항원 결합 도메인; 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 선택적인 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 선택적인 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 적어도 하나의 다른 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드에 관한 것이다.

[0006] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역 전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0007] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다.

[0008] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0009] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 모두 각각, 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0010] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0011] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들

은 동일한 돌출부 형성 돌연변이를 각각 갖는다. 일부 구현예에서, 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 각각 동일한 역전하 돌연변이를 갖는다.

[0012] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는, 역전하 돌연변이를 포함하지만 돌출부-형성 돌연변이를 포함하지 않는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이(들)와 상이한 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0013] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 역전하 돌연변이는 CH3 도메인에 있다. 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 EU 위치 G341부터 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있다. 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 단일 아미노산 변화이다.

[0014] 일부 구현예에서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는

[0015] GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제2 링커 및 선택적인 제3 링커는 글리신 스페이서이다. 일부 구현예에서, 제2 링커 및 선택적인 제3 링커는 독립적으로 4 내지 30, 4 내지 20, 8 내지 30, 8 내지 20, 12 내지 20 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제2 링커 및 선택적인 제3 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어진다.

[0016] 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, EU 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A이다.

[0017] 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P이다.

[0018] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 갖는다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는다.

[0019] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함한다.

[0021] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함한다.

[0023] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함한다.

[0024]

[0025] 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 Eu 위치 G341부터 Eu 위치 K447까지의 서열 내에 있다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로부터 선택된다.

[0026] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 1A 및 1B에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 1A 및 1B에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있다.

[0027] 일부 구현예에서, 본 개시는, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 전술한 폴리펩티드 중 어느 하나를 포함하는 폴리펩티드 복합체에 관한 것으로서, 상기 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 간의 이황화 결합에 의해 연결된다. 일부 구현예에서,

제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로부터 선택된다.

[0028] 일부 구현예에서, 상기 폴리펩티드 복합체는 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드에 추가로 연결되며, 상기 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제3 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 간의 이황화 결합에 의해 연결되고, 제2 및 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 상이한 IgG1 Fc 도메인 단량체에 연결된다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택된다.

[0029] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하며, 제2 및 제3 폴리펩티드 단량체는 상이한 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0030] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체 및 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체를 포함한다. 일부 구현예에서, S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체는 E357K 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 K370D 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다.

[0032] 일부 구현예에서, 폴리펩티드 복합체는 단일 Fc 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드 복합체에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 포함한다.

[0033] 또 다른 양태에서, 본 개시는, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제2 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드에 관한 것으로서, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 적어도 하나의 다른 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0034] 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역 전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 둘 다는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0035] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함한다.

[0036] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0037] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인

단량체는 모두 각각, 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0038] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 제2 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0039] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 동일한 돌출부 형성 돌연변이를 각각 갖는다. 일부 구현예에서, 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 각각 동일한 역전하 돌연변이를 갖는다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체들은 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체는, 역전하 돌연변이를 포함하지만 돌출부-형성 돌연변이를 포함하지 않는 폴리펩티드의 IgG1 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이(들)와 상이한 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0040] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 역전하 돌연변이는 CH3 도메인에 있다. 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 Eu 위치 G341부터 Eu 위치 K447까지의 서열 내에 있다. 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 단일 아미노산 변화이다.

[0041] 일부 구현예에서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는

[0042] GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 글리신 스페이서이다. 일부 구현예에서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 독립적으로 4 내지 30, 4 내지 20, 8 내지 30, 8 내지 20, 12 내지 20 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제1 링커 및 임의의 제2 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어진다.

[0043] 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 Eu 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, Eu 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A이다.

[0044] 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 Eu 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, Eu 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P이다.

[0045] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 구현예에서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체, 제2 Fc 도메인 단량체, 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는다.

[0046] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인들은 동일하고, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함한다.

[0047] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함한다.

[0048] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함한다.

[0049] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함한다.

[0050] 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인들은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함한다.

[0051]

[0052] 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 Eu 위치 G341부터 Eu 위치 K447까지의 서열 내에 있다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택된다.

[0053] 일부 구현예에서, 본 개시는, 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 전술한 폴리펩티드 중 어느 하나를 포함하는 폴리펩티드 복합체에 관한 것으로서, 상기 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 간의 이황화 결합에 의해 연결된다.

[0054] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택된다.

[0055] 일부 구현예에서, 상기 폴리펩티드 복합체는 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드에 추가로 연결되며, 상기 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제3 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 간의 이황화 결합에 의해 연결되고, 제2 및 제3 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 상이한 IgG1 Fc 도메인 단량체에 연결된다.

[0056] 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 적어도 2개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및

D356K로부터 선택된다.

[0057] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하며, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함하며, 제2 및 제3 폴리펩티드 단량체는 상이한 역전하 돌연변이를 포함한다.

[0058] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0059] 일부 구현예에서, 폴리펩티드는 S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체 및 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체를 포함한다. 일부 구현예에서, S354C 및 T366W 돌연변이를 포함하는 적어도 하나의 Fc 단량체는 E357K 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 K370D 돌연변이를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함하고, 제3 폴리펩티드 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다.

[0060] 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 항원 결합 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 제3 폴리펩티드는 항원 결합 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 1A 및 1B에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 1A 및 1B에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 제2 폴리펩티드는 제1 항원 결합 도메인을 추가로 포함하고, 제3 폴리펩티드는 제2 항원 결합 도메인을 추가로 포함한다.

[0061] 일부 구현예에서, 폴리펩티드 복합체는 단일 Fc 도메인 및 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 갖는 폴리펩티드 복합체에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 포함한다.

[0062] 또 다른 양태에서, 본 개시는 전술한 폴리펩티드 중 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자에 관한 것이다.

[0063] 또 다른 양태에서, 본 개시는 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터에 관한 것이다.

[0064] 또 다른 양태에서, 본 개시는 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0065] 또 다른 양태에서, 본 개시는 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0066] 또 다른 양태에서, 본 개시는 상기 폴리펩티드 중 어느 하나를 제조하는 방법으로서, 폴리펩티드를 발현하는 조

건 하에서 상기 구현예를 위한 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0067] 일부 구현예에서, 숙주 세포는 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 숙주 세포는 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, IgG1 Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에서 10개, 8개, 6개, 또는 4개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 서열번호 42, 43, 45, 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0068] 또 다른 양태에서, 본 개시는 상기 폴리펩티드 중 어느 하나를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.

[0069] 일부 구현예에서, 약학적 조성물의 폴리펩티드 중 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 2% 미만은 Fc 도메인 단량체에 대해 적어도 하나의 푸코스 변형을 갖는다.

[0070] 또 다른 양태에서, 본 개시는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 관한 것으로서, 상기 작제물은:

[0071] a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및 iv) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며; 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성한다.

[0072] 일부 구현예에서, 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다.

[0073] 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다.

[0074] 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 단일 아미노산 변화이다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 Eu 위치 G341부터 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있다.

[0075] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택된다.

[0076] 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제4 Fc 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제5 Fc 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다.

[0077] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 Fab이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 V_L 도메인

을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.

[0078] 또 다른 양태에서, 본 개시는 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및 iv) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며; 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물에 관한 것이다.

[0079] 일부 구현예에서, 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다.

[0080] 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다.

[0081] 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 단일 아미노산 변화이다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341부터 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있다.

[0082] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R 및 D356K로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 각각 포함하고, 제3 Fc 도메인 단량체는 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제4 Fc 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제5 Fc 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다.

[0083] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 Fab이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 VL 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함한다.

[0084] 또 다른 양태에서, 본 개시는 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및 v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리

펩티드; c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하되, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며; 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물에 관한 것이다.

[0085] 일부 구현예에서, 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS, GGGSGGGSGGGS, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다.

[0086] 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 적어도 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체는 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 추가로 포함한다.

[0087] 일부 구현예에서, 상기 돌연변이는 단일 아미노산 변화이다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이다. 일부 구현예에서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341부터 EU 위치 K447까지의(그 사이의 위치를 포함함) 서열 내에 있다.

[0088] 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 S354C, T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 적어도 하나의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, 및 D356K로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체는 S354C, T366W 및 E357K 돌연변이를 포함하고, 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 D356K 및 D399K 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제4 Fc 도메인 단량체는 Y349C, T366S, L368A, Y407V 및 K370D 돌연변이를 포함한다. 일부 구현예에서, 제5 Fc 도메인 단량체는 K392D 및 K409D 돌연변이를 포함한다.

[0089] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 Fab이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 scFv이다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1a 및 표 1b에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.

[0090] 또 다른 양태에서, 본 개시는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은: a) (1) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; (2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; (3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 (4) 항원 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계(제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 항원 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성함); 및 b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함한다.

[0091] 일부 구현예에서, 몰 기준으로 세포 배양 상청액 중 적어도 50%의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 구조적으로 동일하다.

[0092] 또 다른 양태에서, 본 개시는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은: a) (1)

i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; (2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; (3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 (4) 항원 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계(제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 항원 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성함); 및 b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함한다.

[0093] 일부 구현예에서, 몰 기준으로 세포 배양 상청액 중 적어도 50%의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 구조적으로 동일하다.

[0094] 또 다른 양태에서, 본 개시는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 제조하는 방법에 관한 것으로서, 상기 방법은: a) (1) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; v) 제2 Fc 도메인 단량체를 제3 Fc 도메인 단량체에 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; (2) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; (3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 (4) 항원 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계(제1 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체 및 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 항원 결합 도메인은 제3 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성함); 및 b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함한다.

[0095] 일부 구현예에서, 몰 기준으로 세포 배양 상청액 중 적어도 50%의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 구조적으로 동일하다.

[0096] 본 발명의 모든 양태에서, Fc 도메인 단량체들의 일부 또는 전부(예를 들어, 10개, 8개, 6개 또는 4개 이하의 단일 아미노산 치환을(예를 들어, CH3 도메인에서만) 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인 단량체)는 다른 아미노산 치환 또는 변형에 더하여 E345K 및 E43G 아미노산 치환 중 하나 또는 둘 모두를 가질 수 있다. E345K 및 E43G 아미노산 치환은 Fc 도메인 다량체화를 증가시킬 수 있다.

[0097] 정의:

[0098] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "Fc 도메인 단량체"는 적어도 힌지 도메인 및 제2 및 제3 항체 불변 도메인(C_H2 및 C_H3) 또는 이의 기능성 단편(예를 들어, 적어도 힌지 도메인 또는 이의 기능성 단편, CH2 도메인 또는 이의 기능성 단편, 및 CH3 도메인 또는 이의 기능성 단편)(예를 들어, (i) 다른 Fc 도메인 단량체와 이량체화되어 Fc 도메인을 형성할 수 있고, (ii) Fc 수용체에 결합될 수 있는 단편)을 포함하는 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. 바람직한 Fc 도메인 단량체는 아미노 말단에서 카복시 말단까지 IgG1 힌지, IgG1 CH2 도메인 및 IgG1 CH3 도메인의 적어도 일부를 포함한다. 따라서, Fc 도메인 단량체, 예컨대 인간 IgG1 Fc 도메인 단량체는 E316에서 G446 또는 K447까지, P317에서 G446 또는 K447까지, K318에서 G446 또는 K447까지, K318에서 G446 또는 K447까지, S319에서 G446 또는 K447까지, C320에서 G446 또는 K447까지, D321에서 G446 또는 K447까지, K322에서 G446 또는 K447까지, T323에서 G446 또는 K447까지, K323에서 G446 또는 K447까지, H324에서 G446 또는 K447까지, T325에서 G446 또는 K447까지, 또는 C326에서 G446 또는 K447까지 확장될 수 있다. Fc 도메인 단량체는 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD(예컨대, IgG)를 포함하는 임의의 면역글로불린 항체 동형일 수 있다. 추가로, Fc 도메인 단량체는 IgG 아형(예컨대, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)(예컨대, 인간 IgG1)일 수 있다. 인간 IgG1 Fc 도메인 단량체는 본원에 기재된 실시예에 사용된다. 인간 IgG1의 전체 힌지 도메인은 EU 넘버링 E316에서 P230 또는 L235까지 확장되고, CH2 도메인은 A231 또는 G236에서 K340까지 확장되고, CH3 도메인은 G341에서 K447까지 확장된다. 힌지 도메인의 마지막 아미노산의 위치에 대한 다른 견해가 있다. 이는 P230 또는 L235이다. 본원의 많은 예에서, CH3 도메인은 K347을 포함하지 않는다. 따라서, CH3 도메인은 G341에서 G446까지일 수 있다. 본원의 많은 예에서, 힌지 도메인은 E216 내지 L235를 포함할 수 있다. 이는, 예를 들어 힌지가 CH1 도메인 또는 CD38 결합 도메인에 대한 카복시 말단인 경우에 해당된다. 일부 경우에, 예를 들어 힌지가 폴리펩티드의 아미노 말단에 있는 경우, EU 넘버링 221의 Asp는 Gln으로 돌연변이된다. Fc 도메인 단량체는 항원-인식 영역, 예컨대 가변 도메인 또는 상보성 결정 영역(CDR)으로 작용할 수 있는 면역글로불린의 어떤 부분도 포함하

지 않는다. Fc 도메인 단량체는 Fc 도메인과 Fc 수용체 간의 상호작용을 변경하는 야생형(예컨대, 인간) Fc 도메인 단량체 서열로부터의 10개만큼의 변화(예컨대, 1~10개, 1~8개, 1~6개, 1~4개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실)를 함유할 수 있다. Fc 도메인 단량체는 Fc 도메인 단량체 간의 상호작용을 변경하는 야생형 Fc 도메인 단량체 서열로부터의 10개만큼의 변화(예컨대, 단일 아미노산 변화)(예컨대, 1~10개, 1~8개, 1~6개, 1~4개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실)를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 인간 IgG1 CH3 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG와 비교하여 CH3 도메인에는 최대 10개, 8개, 6개 또는 5개의 단일 아미노산 치환이 있다. 적합한 변화의 예는 당업계에 공지되어 있다.

[0099] 본원에서 사용된 바와 같은, 용어 "Fc 도메인"은 Fc 수용체에 결합할 수 있는 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체를 지칭한다. 야생형 Fc 도메인에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 2개의 C_H3 항체 불변 도메인 사이의 상호작용뿐만 아니라 2개의 이량체화 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 사이에 형성되는 하나 이상의 이황화 결합에 의해 이량체화된다.

[0100] 본 발명에서, "Fc-항원 결합 도메인 작제물"이란 용어는 본원에 기재된 바와 같은 적어도 2개의 Fc 도메인을 형성하고 적어도 하나의 "항원 결합 도메인"을 포함하는 결합된 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 동일하거나 상이한 서열을 갖는 Fc 도메인 단량체를 포함할 수 있다. 예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 Fc 도메인을 가질 수 있고, 이 중 2개는 IgG1 또는 IgG1-유래 Fc 도메인 단량체를 포함하고, 세 번째 것은 IgG2 또는 IgG2-유래 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 다른 비제한적인 예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 Fc 도메인을 가질 수 있으며, 이 중 2개는 "돌출부-함몰부 쌍"("노브-홀 쌍(knobs-into-holes pair)"으로도 알려짐)을 포함하고, 세 번째 것은 "돌출부-함몰부 쌍"을 포함하지 않으며, 예를 들어 세 번째 Fc 도메인은 돌출부-함몰부 쌍이 아닌 하나 이상의 정전기 스티어링 돌연변이를 포함하거나, 세 번째 Fc 도메인은 야생형 서열을 갖는다(즉, 돌연변이를 포함하지 않는다). Fc 도메인은 Fc 수용체, 예컨대 FcɣRI, FcɣRIIa, FcɣRIIb, FcɣRIIIa, FcɣRIIIb 또는 FcɣRIV에 결합하는 최소 구조를 형성한다. 일부 경우에, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 Fc 단량체 중 적어도 2개가 상이한 이종이량체화 돌연변이를 함유하는(즉, Fc 단량체는 각각 상이한 돌출부-형성 돌연변이를 가지거나, 각각 상이한 정전기 스티어링 돌연변이를 가지거나, 또는 하나의 단량체는 돌출부-형성 돌연변이를 가지고 하나의 단량체는 정전기 스티어링 돌연변이를 가짐) 다중 Fc 도메인 단량체를 함유하는 제1 폴리펩티드를, 적어도 2개의 추가 폴리펩티드(추가 폴리펩티드는 각각 서로 상이한 이종이량체화 돌연변이를 함유하는 Fc 단량체를 적어도 하나 함유하는, 즉, 추가 폴리펩티드의 Fc 단량체는 상이한 돌출부-형성 돌연변이를 가지거나, 상이한 정전기 스티어링 돌연변이를 가지거나, 또는 하나의 단량체는 돌출부-형성 돌연변이를 가지고 하나의 단량체는 정전기 스티어링 돌연변이를 가짐)에 연결함으로써 형성되는 "직교" Fc-항원 결합 도메인 작제물이다. 추가 폴리펩티드의 이종이량체화 돌연변이는 제1 폴리펩티드의 적어도 Fc 단량체의 이종이량체화 돌연변이와 양립할 수 있게 결합된다.

[0101] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항원 결합 도메인"은 표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드, 폴리펩티드 또는 결합된 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 구현예에서, "항원 결합 도메인"은 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 최소 서열이다. 표면 플라스몬 공명(SPR) 또는 당업계에 공지된 다양한 면역검정, 예를 들어 웨스턴 블롯 또는 ELISA를 사용하여 항원에 대한 항체 특이성을 평가할 수 있다. 일부 구현예에서, "항원 결합 도메인"은 항체의 가변 도메인 또는 상보성 결정 영역(CDR), 예를 들어, 표 1에 기재된 항체의 하나 이상의 CDR, 표 2에 기재된 항체의 하나 이상의 CDR, 또는 표 2에 기재된 항체의 VH 및/또는 VL 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을, 선택적으로 VL 도메인과 함께 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 항원 (예: CD38) 결합 도메인은 항체의 Fab 단편 또는 scFv이다. 그러므로, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하거나 이로 이루어지는 "CD38 중쇄 결합 도메인", 및 VL 도메인 및 C_L 도메인을 포함하거나 이로 이루어지는 "CD38 경쇄 결합 도메인"을 포함할 수 있다. CD38 결합 도메인은 또한 피브로넥틴 기반 결합 단백질(예를 들어, 피브로넥틴 III형 도메인(FN3) 모노바디)과 같은 표적에 특이적으로 결합하는 합성 유전자 조작 펩티드일 수 있다.

[0102] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "상보성 결정 영역"(CDR)은 항원 결합에 필요한 항체 가변 도메인의 아미노산 잔기를 지칭한다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3, 및 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3으로 식별되는 3개의 CDR 영역을 갖는다. 각각의 상보성 결정 영역은 Kabat에 의해 정의된 "상보성 결정 영역"으로부터의 아미노산 잔기(즉, 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24~34(CDR-L1), 50~56(CDR-L2) 및 89~97(CDR-L3) 및 중쇄 가변 도메인에서 31~35(CDR-H1), 50~65(CDR-H2) 및 95~102(CDR-H3); 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National

Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991)]) 및/또는 "초가변 루프"(즉, 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 26~32(CDR-L1), 50~52(CDR-L2) 및 91~96(CDR-L3), 및 중쇄 가변 도메인에서 26~32(CDR-H1), 53~55(CDR-H2) 및 96~101(CDR-H3); 문헌[Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)])로부터의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 상보성 결정 영역은 Kabat에 따라 정의된 CDR 영역 및 초가변 루프 둘 모두로부터의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0103] "프레임워크 영역"(이하 FR)은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 FR1, FR2, FR3 및 FR4로서 식별되는 4개의 FR을 갖는다. CDR이 Kabat에 따라 정의된 경우, 경쇄 FR 잔기는 약 잔기 1~23(LCFR1), 35~49(LCFR2), 57~88(LCFR3) 및 98~107(LCFR4)에 위치되며, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기의 약 잔기 1~30(HCFR1), 36~49(HCFR2), 66-94(HCFR3) 및 103~113(HCFR4)에 위치한다. CDR이 초가변 루프로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 경우, 경쇄 FR 잔기는 경쇄의 약 잔기 1~25(LCFR1), 33~49(LCFR2), 53~90(LCFR3) 및 97~107(LCFR4)에 위치하며, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기의 약 잔기 1~25(HCFR1), 33~52(HCFR2), 56표95(HCFR3) 및 102~113(HCFR4)에 위치한다. 일부 경우에, CDR이 Kabat에 의해 정의된 것과 같은 CDR 및 초가변 루프의 것들 둘 다의 아미노산을 포함하는 경우, FR 잔기는 그에 따라 조정되게 된다.

[0104] "Fv" 단편은 완전 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 항체 단편이다. 이러한 영역은 밀접 결합된 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성되며, 이는, 예를 들어, scFv에서 본질적으로 공유 결합일 수 있다. 이 구성에서 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR은 상호작용하여 V_H-V_L 이량체의 표면 상의 항원 결합 부위를 정의한다.

[0105] "Fab" 단편은 경쇄의 가변 및 불변 도메인 및 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인(C_H1)을 함유한다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 일반적으로 힌지 시스테인에 의해 카복시 말단 근처에 공유 결합된 한 쌍의 Fab 단편을 포함한다.

[0106] "단일-사슬 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 사슬에 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 V_H 및 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하며, 이는 scFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다.

[0107] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체 불변 도메인"은 항체의 불변 영역 도메인(예를 들어, C_L 항체 불변 도메인, C_H1 항체 불변 도메인, C_H2 항체 불변 도메인 또는 C_H3 항체 불변 도메인)에 상응하는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0108] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "촉진한다"는 다른 별개의 Fc 도메인 단량체보다 서로 간에 결합 친화도가 더 높은 2개의 Fc 도메인 단량체로부터 Fc 도메인의 형성을 장려하는 것과 같이 조장하거나 장려하게 하는 것을 의미한다. 본원에 기재된 바와 같이, 결합하여 Fc 도메인을 형성하는 2개의 Fc 도메인 단량체는 그들 각자의 C_H3 항체 불변 도메인의 계면에서 양립성 아미노산 변형(예를 들어, 유전자 조작 돌출부 및 유전자 조작 함몰부 및/또는 정전기 스티어링 돌연변이)을 가질 수 있다. 양립성 아미노산 변형은 이러한 아미노산 변형이 결여되거나 비양립성 아미노산 변형을 갖는 다른 Fc 도메인 단량체와 비교하여 이러한 Fc 도메인 단량체의 서로 간의 선택적 상호작용을 촉진하거나 장려한다. 이는 2개의 상호작용하는 CH_3 항체 불변 도메인의 계면에서의 아미노산 변형으로 인해, 아미노산 변형이 결여된 다른 Fc 도메인 단량체보다 서로를 향해 더 높은 친화도를 갖는 Fc 도메인 단량체 때문에 발생한다.

[0109] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이량체화 선택성 모듈"은 2개의 Fc 도메인 단량체 간의 장려되는 페어링을 용이하게 하는 Fc 도메인 단량체의 서열을 지칭한다. "상보적" 이량체화 선택성 모듈은 2개의 Fc 도메인 단량체의 서로 간의 선택적 상호작용을 촉진하거나 장려하는 이량체화 선택성 모듈이다. 상보적 이량체화 선택성 모듈은 동일하거나 상이한 서열을 가질 수 있다. 예시적인 상보적 이량체화 선택성 모듈은 본원에 기재되며, 표 3의 유전자 조작 돌출부-형성 및 함몰부-형성 돌연변이 또는 표 4의 정전기 스티어링 돌연변이로부터 선택되는 상보적 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0110] 본원에서 사용된 바와 같은, 용어 "유전자 조작 함몰부"는 원래의 아미노산 잔기보다 더 작은 측쇄 체적을 갖는 상이한 아미노산 잔기를 가진 CH^3 항체 불변 도메인에 있는 원래의 아미노산 잔기 중 적어도 하나의 치환을 지칭하며, 따라서 CH_3 항체 불변 도메인에 3차원 함몰부를 생성한다. "원래의 아미노산 잔기"라는 용어는 야생형 CH_3 항체 불변 도메인의 유전 암호에 의해 암호화된 자연 발생 아미노산 잔기를 지칭한다. 유전자 조작 함몰부는,

예를 들어, 표 3의 함몰부-형성 치환 돌연변이 중 임의의 하나 이상에 의해 형성될 수 있다.

[0111] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자 조작 돌출부"는 원래의 아미노산 잔기보다 더 큰 측쇄 체적을 갖는 상이한 아미노산 잔기를 가진 CH_3 항체 불변 도메인에 있는 원래의 아미노산 잔기 중 적어도 하나의 치환을 지칭하며, 따라서 CH_3 항체 불변 도메인에 3차원 돌출부를 생성한다. "원래의 아미노산 잔기"라는 용어는 야생형 CH_3 항체 불변 도메인의 유전 암호에 의해 암호화된 자연 발생 아미노산 잔기를 지칭한다. 유전자 조작 함몰부는, 예를 들어, 표 3의 돌출부-형성 치환 돌연변이 중 임의의 하나 이상에 의해 형성될 수 있다.

[0112] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "돌출부-함몰부 쌍"은 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함하는 Fc 도메인을 설명하되, 제1 Fc 도메인 단량체는 이의 CH_3 항체 불변 도메인에 유전자 조작 함몰부를 포함하는 반면, 제2 Fc 도메인 단량체는 이의 CH_3 항체 불변 도메인에 유전자 조작 돌출부를 포함한다. 돌출부-함몰부 쌍에서, 제1 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인에 있는 유전자 조작 돌출부는 CH_3 항체 불변 도메인간 계면에서 이량체의 정상 회합을 유의미하게 교란시키지 않으면서 제2 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부와 상호작용하도록 위치된다. 돌출부-함몰부 쌍은, 예를 들어, 표 3의 임의의 하나 이상의 함몰부-형성 치환 돌연변이 및 임의의 하나 이상의 돌출부-형성 치환 돌연변이의 상보적 쌍을 포함할 수 있다.

[0113] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 이종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이들 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 형성을 촉진하는 상이한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 4의 돌연변이 참조)를 함유한다.

[0114] Fc-항원 결합 도메인 작제물의 개체군과 관련하여 본원에서 사용된 용어 "구조적으로 동일한"은 동일한 비율 및 구성으로 동일한 폴리펩티드 서열의 조립인 작제물을 지칭하며, 글리코실화와 같은 임의의 번역 후 변형을 지칭하지 않는다.

[0115] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "동종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 동일한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 5 및 표 6의 돌연변이 참조)를 함유한다.

[0116] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이종이량체화 선택성 모듈"은 양립성 이종이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 이종이량체화를 촉진하기 위해 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인에서 이루어질 수 있는 유전자 조작 돌출부, 유전자 조작 함몰부 및 특정 역전하 아미노산 치환을 지칭한다. 이종이량체화 선택성 모듈을 함유하는 Fc 도메인 단량체는 결합하여 이종이량체 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 이종이량체화 선택성 모듈의 예는 표 3 및 표 4에 도시되어 있다.

[0117] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "동종이량체화 선택성 모듈"은 동종이량체 Fc 도메인을 형성하도록 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화를 촉진하는 CH_3 도메인 사이의 계면에서 하전 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치의 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이를 지칭한다. 예를 들어, 동종이량체화 선택성 모듈을 형성하는 역전하 돌연변이는 CH_3 도메인 사이의 계면에서 하전된 잔기의 고리 내에 있는 (EU 넘버링에 의해) 위치 357, 370, 399 및/또는 409로부터 적어도 2개의 아미노산 내에 있을 수 있다. 동종이량체화 선택성 모듈의 예는 표 4 및 표 5에 도시되어 있다.

[0118] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "연결된(joined)"은 화학적 접합, 재조합 수단 및 화학 결합(예컨대, 이황화 결합 및 아미드 결합)을 포함하는 수단에 의한 둘 이상의 요소, 성분, 또는 단백질 도메인(예컨대, 폴리펩티드)의 조합 또는 부착을 설명하기 위해 사용된다. 예를 들어, 2개의 단일 폴리펩티드는 화학적 접합, 화학 결합, 펩티드 링커 또는 공유 결합의 임의의 다른 수단을 통해 연결되어 하나의 연속 단백질 구조를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인 단량체 모두를 암호화하는 인접한 핵산 서열로부터 발현됨으로써 Fc 도메인 단량체에 연결된다. 다른 구현예에서, 항원 결합 도메인은 펩티드 링커를 통해 Fc 도메인 단량체에 연결되며, 펩티드 링커의 N-말단은 화학 결합, 예를 들어, 펩티드 결합을 통해 항원 결합 도메인의 C-말단에 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 화학 결합, 예를 들어 펩티드 결합을 통해 Fc 도메인 단량체의 N-말단에 연결된다.

[0119] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "결합된(associated)"은 폴리펩티드(또는 하나의 단일 폴리펩티드 내의 서열)가 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)을 형성하도록 위치되게 하는 폴리펩티드(또는 하나의 단일 폴리펩티드 내의 서열) 사이의 상호작용, 예를

들어 수소 결합, 소수성 상호작용 또는 이온성 상호작용을 기재하는 데 사용된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 4개의 폴리펩티드, 예를 들어 2개의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하는 2개의 폴리펩티드 및 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하는 2개의 폴리펩티드는 결합되어 (예를 들어, 도 50 및 도 51에 도시된 바와 같은) 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc 작제물을 형성한다. 4개의 폴리펩티드는 이들 각자의 Fc 도메인 단량체를 통해 회합할 수 있다. 폴리펩티드 사이의 회합은 공유 상호작용을 포함하지 않는다.

[0120] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "링커"는 2개의 요소, 예를 들어 단백질 도메인 사이의 연결을 지칭한다. 링커는 공유 결합 또는 스페이서일 수 있다. "결합"이라는 용어는 화학 결합, 예컨대, 아미드 결합 또는 이황화 결합, 또는 화학 반응에 의해 생성된 임의의 종류의 결합, 예컨대, 화학적 접합을 지칭한다. "스페이서"라는 용어는 2개의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인 사이에 공간 및/또는 가요성을 제공하기 위해 2개의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인 사이에 발생하는 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 중합체) 또는 아미노산 서열(예를 들어, 3~200개의 아미노산, 3~150개의 아미노산 또는 3~100개의 아미노산 서열)을 지칭한다. 아미노산 스페이서는 (예를 들어, 폴리펩티드 골격을 통해 이격된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인에 연결된) 폴리펩티드의 1차 서열의 부분이다. 예를 들어, Fc 도메인을 형성하는 2개의 힌지 영역 또는 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 이황화 결합의 형성은 링커로 간주되지 않는다.

[0121] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "글리신 스페이서"는 2개의 Fc 도메인 단량체를 직렬로 결합시키는 글리신만을 함유하는 링커를 지칭한다. 글리신 스페이서는 적어도 4, 8 또는 12개의 글리신(예를 들어, 4~30, 8~30 또는 12~30개의 글리신; 예를 들어, 12~30개, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 글리신)을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 글리신 스페이서는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 27)의 서열을 갖는다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "알부민-결합 펩티드"는 혈청 알부민에 대한 친화도를 가지며, 이에 결합하도록 기능하는 12 내지 16개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 지칭한다. 알부민-결합 펩티드는 상이한 기원, 예를 들어 인간, 마우스 또는 쥐의 것일 수 있다. 본 개시 내용의 일부 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 Fc 도메인 단량체의 C-말단에 융합되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 혈청 반감기를 증가시킨다. 알부민-결합 펩티드는 직접 또는 링커를 통해, Fc 도메인 단량체의 N-말단 또는 C-말단에 융합될 수 있다.

[0122] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "정제 펩티드"는 폴리펩티드의 정제, 단리 또는 동정에 사용될 수 있는 임의의 길이의 펩티드를 지칭한다. 정제 펩티드는, 예를 들어 세포 용해 혼합물로부터 폴리펩티드를 정제하고/하거나 폴리펩티드를 단리하는 것을 돕기 위해 폴리펩티드에 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드는 정제 펩티드에 특이적 친화도를 갖는 다른 모이어티에 결합한다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드에 특이적으로 결합하는 이러한 모이어티는 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드와 같은 고형 지지체에 부착된다. Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있는 정제 펩티드의 예는 본원에서 추가로 상세하게 기재된다.

[0123] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "다량체"는 본원에 기재된 적어도 2개의 결합된 Fc 작제물 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 포함하는 분자를 지칭한다.

[0124] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오티드"는 올리고뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드, 및 이의 단편 또는 일부를 지칭하며, 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있고 센스 가닥 또는 안티-센스 가닥을 나타낼 수 있는 게놈 기원 또는 합성 기원의 DNA 또는 RNA를 지칭한다. 단일 폴리뉴클레오티드는 단일 폴리펩티드로 번역된다.

[0125] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩티드"는 단량체가 아미드 결합을 통해 서로 연결되는 아미노산 잔기인 단일 중합체를 말한다. 폴리펩티드는 자연 발생, 재조합 또는 합성에 의해 생성된 임의의 아미노산 서열을 포함하도록 의도된다.

[0126] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산 위치"는 단백질 또는 단백질 도메인에서 아미노산의 위치 번호를 지칭한다. 아미노산 위치는 표시된 경우 (예를 들어, CDR 및 FR 영역) Kabat 넘버링 시스템(Kabat 등의 문헌 [*Sequences of Proteins of Immunological Interest,* National Institutes of Health, Bethesda, Md., ed 5, 1991])을 사용하여 넘버링되며, 그렇지 않으면 EU 넘버링이 사용된다.

[0127] 도 17a 내지 도 17d는 EU 넘버링 시스템을 사용하여 넘버링된 인간 IgG1 Fc 도메인을 도시한다.

[0128] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산 변형"은 기준 서열(예를 들어, 야생형, 비돌연변이 또는 비변형 Fc 서열)과 비교하여, 약물동력학(PK) 및/또는 약물력학(PD) 특성, 혈청 반감기, 효과기 기능(예를 들어, 세포 용해(예를 들어, 항체-의존성 세포-매개 독성(ADCC) 및/또는 보체 의존성 세포독성 활성(CDC)), 식균작용(예를 들어, 항체 의존성 세포성 식균작용(ADCP) 및/또는 보체-의존성 세포성 세포독성(CDCC)), 면역 활성 및 T-세포 활

성), Fc 리포터에(예를 들어, Fc-감마 수용체(FcγR)(예를 들어, FcγRI(CD64), FcγRIIA(CD32), FcγRIIB(CD32), FcγRIIIA(CD16a) 및/또는 FcγRIIIB(CD16b)), Fc-알파 리포터(FcαR), Fc-엡실론 수용체(FcεR) 및/또는 신생아의 Fc 수용체(FcRn)에) 대한 친화도, 보체 연쇄반응(compliment cascade)(예를 들어, C1q)에 관여하는 단백질에 대한 친화도, 번역 후 변형(예를 들어, 글리코실화, 시알산화), 응집 특성(예를 들어, 이량체(예를 들어, 동종이량체 및/또는 이종이량체) 및/또는 다량체를 형성하는 능력) 및 (예를 들어, C_H1 및 C_L 사이의 상호작용을 변경하고, 안정성을 변경하고/하거나 온도 및/또는 pH에 대한 감수성을 변경하는) Fc 작제물의 생물물리학적 특성에 영향을 끼칠 수 있고, 면역성 질환 및 염증성 질환의 치료 효능 개선을 촉진시킬 수 있는 Fc 도메인 폴리펩티드 서열의 변경을 지칭한다. 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 변형은 단일 아미노산의 변형이다. 다른 구현예에서, 아미노산 변형은 다수의(예컨대, 하나 초과의) 아미노산의 변형이다. 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 변형의 기술에는 점 돌연변이(예: 단일 뉴클레오티드를 다른 것과 교환하는 것)와 같은 유전적 변경(즉, DNA 및 RNA의 변경), Fc 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 삽입 및 결실(예컨대, 하나 이상의 뉴클레오티드의 첨가 및/또는 제거)이 포함된다.

[0129] 특정 구현예에서, Fc 작제물 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 적어도 하나의(예컨대, 1, 2, 또는 3개의) Fc 도메인은 아미노산 변형을 포함한다. 일부 경우에, 적어도 하나의 Fc 도메인은 하나 이상의(예컨대, 둘, 셋, 넷, 다섯, 여섯, 일곱, 여덟, 아홉, 열, 또는 스물 이상의) 아미노산 변형을 포함한다.

[0130] 특정 구현예에서, Fc 작제물 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 적어도 하나의(예를 들어, 1, 2 또는 3개) Fc 도메인 단량체는 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 경우에, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 20개 이하) 아미노산 변형들(예를 들어, 치환들)을 포함한다.

[0131] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "퍼센트(%) 동일성"은, 필요한 경우, 최대 % 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 갭(gap)을 도입한(즉, 갭은 최적의 정렬을 위해 후보 및 참조 서열 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있으며, 비상동 서열은 비교를 위해 무시할 수 있음) 후에 기준 서열, 예를 들어, 야생형 Fc 도메인 단량체의 서열의 아미노산(또는 핵산) 잔기와 동일한 후보 서열, 예를 들어 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 Fc 도메인 단량체의 서열의 아미노산(또는 핵산) 잔기의 백분율을 지칭한다. % 동일성을 결정하기 위한 정렬은 당업계의 기술 내에 있는 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 일부 구현예에서, 주어진 기준 서열에 대한, 이에 대해 또는 이와 비교하여 주어진 후보 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성(이는 특정 % 아미노산(또는 핵산)을 갖거나 포함하는 주어진 후보 서열로 대안적으로 표현될 수 있음)은 다음과 같이 계산된다:

[0132] 100 x (A/B의 분수)

[0133] 여기서, A는 후보 서열 및 기준 서열의 정렬에서 동일한 것으로 점수가 부여된 아미노산(또는 핵산) 잔기의 수이고, B는 기준 서열에 있는 아미노산(또는 핵산) 잔기의 총 수이다. 후보 서열의 길이가 기준 서열의 길이와 동일하지 않은 일부 구현예에서, 기준 서열에 대한 후보 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성은 후보 서열에 대한 기준 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성과 동일하지 않을 것이다.

[0134] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 야생형 Fc 도메인 단량체의 서열(예를 들어, 서열번호 42)에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 서열번호 43~48 및 50~53 중 어느 하나의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체는 서열번호 48, 52 및 53의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0135] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 본원에 추가로 기재된 서열번호 1~36(예를 들어, 서열번호 17, 18, 26 및 27) 중 어느 하나의 서열에 적어도 75% 동일한(적어도 75%, 77%, 79%, 81%, 83%, 85%, 87%, 89%, 91%, 93%, 95%, 97%, 99%, 99.5% 또는 100% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0136] 일부 구현예에서, Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체는 서열 번호 42~48 및 50~53 중 어느 하나의 서열과 최대

10개의 아미노산, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산이 상이한 서열을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체는 서열 번호 42~48 및 50~53 중 어느 하나의 서열에 비해 최대 10개의 아미노산 치환, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 치환을 갖는다.

[0137] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 필요한 이의 상응하는 핵산으로부터 단백질을 발현하는 데 필요한 세포 성분, 예를 들어, 세포 기관을 포함하는 비히클(vehicle)을 지칭한다. 핵산은 전형적으로 당업계에 공지된 종래 기술(형질전환, 형질감염, 전기 천공법, 인산칼슘 침전, 직접 미세현미주입(direct microinjection) 등)에 의해 숙주 세포에 도입될 수 있는 핵산 벡터에 포함된다. 숙주 세포는 원핵 세포(예를 들어, 세균 세포) 또는 진핵 세포(예를 들어, CHO 세포와 같은 포유류 세포)일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 숙주 세포를 사용하여 원하는 도메인을 암호화하는 하나 이상의 폴리펩티드를 발현하며, 이는 이어서 결합하여 원하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성할 수 있다.

[0138] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적 조성물"은 유효 성분뿐만 아니라 유효 성분을 투여 방법에 적합하게 만들 수 있는 하나 이상의 부형제 및 희석제를 함유하는 의약 또는 약학 제형을 지칭한다. 본 개시 내용의 약학적 조성물은 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 양립 가능한, 약학적으로 허용 가능한 성분을 포함한다. 일반적으로, 약학적 조성물은 정맥내 또는 피하 투여를 위한 수성 형태이다.

[0139] 본원에서 사용된 바와 같이, 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 "실질적으로 균질한 집단"은, 비환원 SDS 겔 전기영동 또는 크기 배제 크로마토그래피로 결정시, 조성물(예를 들어, 세포 배양 배지 또는 약학적 조성물) 내 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 적어도 50%가 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는 것이다. 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 실질적으로 균질한 집단은 정제 전에, 또는 단백질 A 또는 단백질 G 정제 후에, 또는 임의의 Fab 또는 Fc-특이적 친화도 크로마토그래피 후에만 수득될 수 있다. 다양한 구현예에서, 조성물에서의 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% 또는 85%는 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는다. 다른 구현예에서, 조성물에서의 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 최대 85%, 90%, 92% 또는 95%는 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는다.

[0140] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 약학적 조성물 중의 부형제 또는 희석제를 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 제형의 다른 성분과 양립 가능해야 하고 피투여자에게 해롭지 않아야 한다. 본 발명에서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 적절한 약학적 안정성을 제공해야 한다. 담체의 특성은 투여 방식에 따라 다르다. 예를 들어, 경구 투여에서는 고형 담체가 바람직하고, 정맥내 투여에서는 수용액 담체(예를 들어, WFI 및/또는 완충액)가 일반적으로 사용된다.

[0141] 본원에서 사용된 "치료 유효량"은 대상 또는 환자에서 원하는 생물학적 효과를 유도하거나 본원에 기재된 질병 또는 장애를 갖는 환자를 치료하는 데 효과적인 약학적 투여량과 같은 양을 지칭한다. 또한 본원에서 "치료 유효량"은 1회 투여량으로 또는 임의의 용량 또는 경로로 섭취되거나 단독으로 또는 다른 치료제와 병용하여 섭취되어 원하는 치료 효과를 제공하는 양으로 해석될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0142] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 단편 및 용어 부분은 상호 교환 가능하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0143] 도 1은 (동일한 폴리펩티드 사슬을 함께 연결하여 형성된) 2개의 Fc 도메인을 갖는 직렬 작제물 및 직렬 Fc 서열의 오프-레지스터 회합에 의해 생성된 종의 일부를 보여주는 개략도이다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다.

도 2는 (동일한 폴리펩티드 사슬을 함께 연결하여 형성된) 펩티드 링커에 의해 연결된 3개의 Fc 도메인을 갖는 직렬 작제물 및 직렬 Fc 서열의 오프-레지스터 회합에 의해 생성된 종의 일부를 보여주는 개략도이다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다.

도 3a 및 3b는 링커에 의해 연결되고 직교 이종이량체화 도메인을 사용하여 조립된 2개의 Fc 도메인(도 3a) 또는 3개의 Fc 도메인(도 3b)을 갖는 Fc 작제물의 개략도이다. 각각의 고유 폴리펩티드 사슬은 다르게 음영 처리되어 있다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 링커는 파선으로 도시되며, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다. CH3 타원은 노브-홀 쌍에 대한 노브를 나타내는 돌출부 및

홀을 나타내는 함몰부로 도시되어 있다. + 및/또는 - 기호는 CH3 도메인의 정전기 스티어링 돌연변이를 나타내기 위해 사용된다.

도 4a 내지 도 4h는 직교 이종이량체화 도메인을 사용해 조립된 다수의 Fc 도메인을 탠덤으로 포함하는 Fc 작제물의 개략도이다. 각각의 고유 폴리펩티드 사슬은 다르게 음영 처리되어 있다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 링커는 파선으로 도시되며, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제1 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 A와 B로 표시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제2 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 C와 D로 표시되어 있다.

도 5a 내지 도 5f는 직교 이종이량체화 도메인을 사용해 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열에 의해 조립된, 다수의 대칭으로 분포된 Fc 도메인을 갖는 분지형 Fc 작제물의 개략도이다. 각각의 고유 폴리펩티드 사슬은 다르게 음영 처리되어 있다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 링커는 파선으로 도시되며, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제1 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 A와 B로 표시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제2 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 C와 D로 표시되어 있다.

도 6a 내지 도 6f는 직교 이종이량체화 도메인을 사용해 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열에 의해 조립된, 다수의 비대칭으로 분포된 Fc 도메인을 갖는 분지형 Fc 작제물의 개략도이다. 각각의 고유 폴리펩티드 사슬은 다르게 음영 처리되어 있다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 링커는 파선으로 도시되며, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제1 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 A와 B로 표시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제2 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 C와 D로 표시되어 있다.

도 7a 내지 도 7d는 직교 이종이량체화 도메인을 사용해 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열에 의해 조립된, 대칭으로 분포된 Fc 도메인 및 비대칭으로 분포된 Fab(들)를 갖는 분지형 Fc 작제물의 개략도이다. 각각의 고유 폴리펩티드 사슬은 다르게 음영 처리되어 있다. Fab 부분의 가변 도메인(VH + VL)은 평행사변형으로 도시되고, Fab 부분의 불변 도메인(CH1 + CL)은 직사각형으로 도시되며, Fc 부분의 도메인(CH2 및 CH3)은 타원형으로 도시되고, 링커는 파선으로 도시되며, 힌지 이황화 결합은 평행선의 쌍으로 도시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제1 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 A와 B로 표시되어 있다. 도메인의 Fc 단량체에서 제2 세트의 이종이량체화 돌연변이를 이용하는 Fc 도메인은 C와 D로 표시되어 있다.

도 8은 비대칭으로 분지된 Fc 작제물의 발현을 입증하는 데 사용된 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 갖는 분지형 항-CD20 작제물의 개략도이다.

도 9는 비대칭으로 분지된 Fc 작제물의 발현을 입증하는 데 사용된 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 갖는 분지형 항-CD20 작제물의 개략도이다.

도 10은 도 8의 Fc 작제물로 조립되는 폴리펩티드를 암호화하는 유전자로 형질감염된 세포의 SDS-PAGE 분석의 결과를 보여준다. 맨 왼쪽 레인(레인 1)에 200 kDa의 밴드가 존재한다는 것은 의도된 Fc 작제물이 형성되었음을 입증하는 것이다.

도 11은 도 9의 Fc 작제물로 조립되는 폴리펩티드를 암호화하는 유전자로 형질감염된 세포의 SDS-PAGE 분석의 결과를 보여준다. 맨 왼쪽 레인(레인 1)에 분자량이 200 kDa보다 약간 더 큰 밴드가 존재한다는 것은 의도된 Fc 작제물이 형성되었음을 입증하는 것이다.

도 12는 3개의 Fc 도메인 및 2개의 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 45)을 도시한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(4502)는 제1 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(4510) 및 2개의 Fc 도메인 단량체(각각 동일한 돌출부 형성 아미노산 치환을 가짐)를 포함하고, N-말단에서 V_H 도메인(4512)을 함유하는 항원 결합 도메인에 링커에 의해 직렬로 탠덤 연결된 제2 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4508 및 4506)을 임의로 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제2 폴리펩티드(4524)는, N-말단에서 V_H 도메인(4518)을 함유하는 항원 결합 도메인에 직렬로 탠덤 연결된 제1 세

트의 하전된 아미노산 치환(4510)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진하는, 한 세트의 하전된 아미노산 치환(들)(4522)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(4516 및 4514)는, 함몰부-형성 아미노산 치환을 포함하고 임의로 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하되, 상기 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)은 제2 세트의 하전된 아미노산 치환(4508 및 4506)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진한다. V_L 함유 도메인(4504 및 4520)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 13은 3개의 Fc 도메인 및 2개의 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 46)을 도시한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(4602)는 제1 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(4608) 및 2개의 Fc 도메인 단량체(각각 동일한 돌출부 형성 아미노산 치환을 가짐)를 포함하고, 스페이서에 의해 직렬로 탠덤 연결된 제2 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4606 및 4604)을 임의로 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제2 폴리펩티드(4618)는 제1 세트의 하전된 아미노산 치환(4608)을 갖는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진하는 한 세트의 하전된 아미노산 치환(들)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(4626 및 4624)는, 함몰부-형성 아미노산 치환을 포함하고 임의로 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하되, 상기 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)은 N-말단에서 V_H 도메인(4622 및 4620)을 함유하는 항원 결합 도메인에 직렬 탠덤 연결된 제2 세트의 하전된 아미노산 치환(4606 및 4604)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진한다. V_L 함유 도메인(4614 및 4610)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 14는 3개의 Fc 도메인 및 2개의 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 47)을 도시한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(4702)는, 각각 제1 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(4708 및 4706)을 포함하는 2개의 Fc 도메인 단량체; 및 돌출부-형성 아미노산 치환을 포함하고, 스페이서에 의해 직렬 탠덤 연결된 제2 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4704)을 임의로 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제2 및 제제3 폴리펩티드(4726 및 4724)는, N-말단에서 V_H 도메인(4722 및 4720)을 함유하는 항원 결합 도메인에 직렬로 탠덤 연결된 제1 세트의 하전된 아미노산 치환(4708 및 4706)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진하는, 한 세트의 하전된 아미노산 치환(들)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 함유한다. 제4 폴리펩티드(4710)는, 함몰부-형성 아미노산 치환을 포함하고 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)을 임의로 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 포함하되, 상기 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)은 제2 세트의 하전된 아미노산 치환(4704)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진한다. V_L 함유 도메인(4712 및 4716)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 15는 5개의 Fc 도메인 및 4개의 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 48)을 도시한다. 이 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(4802)는, 각각 동일한 돌출부 형성 아미노산 치환을 포함하고 제1 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4812, 4810, 4808, 및 4806)을 포함하는 4개의 Fc 도메인 단량체; 스페이서에 의해 직렬 탠덤 연결된 제2 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4804)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제2, 제3, 제4, 및 제5 폴리펩티드(4846, 4844, 4842, 및 4840)는, 함몰부-형성 아미노산 치환을 포함하고 임의로 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)(4830, 4826, 4822, 및 4818)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하되, 상기 한 세트의 C_H3 하전된 아미노산 치환(들)은 N-말단에서 V_H 도메인(4838, 4836, 4834, 및 4832)을 함유하는 항원 결합 도메인에 직렬 탠덤 연결된 제1 세트의 하전된 아미노산 치환(4812, 4810, 4808, 및 4806)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진한다. 제6 폴리펩티드(4814)는, 제2 세트의 하전된 아미노산 치환(4804)을 포함하는 제1 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체와의 유리한 정전기 상호작용을 촉진하는 한 세트의 하전된 아미노산 치환(들)을 포함하는 하나의 Fc 도메인 단량체를 함유한다. V_L 함유 도메인(4816, 4820, 4824, 및 4828)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 16a 내지 도 16c는 항원 결합 도메인이 Fc 작제물의 Fc 도메인에 연결될 수 있는 3개의 예시적인 방법의 개략도이다. 도 16a는 항원 결합 도메인의 중쇄 성분은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있고, 경쇄 성분은 별도의 폴리펩티드로 발현될 수 있음을 보여준다. 도 16b는 긴 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현된 scFv를 보여준다. 도 16c는 별도로 발현되고 외적으로 첨가되어, 화학 결합으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결되는 중쇄 및 경쇄 성분을 보여준다.

도 17a는 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 43)을 EU 넘버링과 함께 도시한다. 힌지 영역은 이중 밑줄로 표시되며, CH2 도메인은 밑줄로 표시되지 않고, CH3 영역은 밑줄로 표시된다.

도 17b는 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 45)을 EU 넘버링과 함께 도시한다. E216~C220이 결여된 힌지 영역은 이중 밑줄로 표시되며, CH2 도메인은 밑줄로 표시되지 않고, CH3 영역은 밑줄로 표시되며 K447이 결여된다.

도 17c는 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 47)을 EU 넘버링과 함께 도시한다. 힌지 영역은 이중 밑줄로 표시되며, CH2 도메인은 밑줄로 표시되지 않고, CH3 영역은 밑줄로 표시되며 K447이 결여된다.

도 17d는 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 42)을 EU 넘버링과 함께 도시한다. E216~C220이 결여된 힌지 영역은 이중 밑줄로 표시되며, CH2 도메인은 밑줄로 표시되지 않고, CH3 영역은 밑줄로 표시된다.

도 18은 비대칭으로 분지된 Fc 작제물의 발현을 입증하는 데 사용된 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 갖는 대안적인 분지형 항-CD20 작제물의 개략도이다.

도 19는 비대칭으로 분지된 Fc 작제물의 발현을 입증하는 데 사용된 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 갖는 대안적인 분지형 항-CD20 작제물의 개략도이다.

도 20은 도 18에 도시된 것과 같은 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 포함하는 분지된 대안적인 항-CD20 작제물을 생성하는 데 사용될 수 있는 폴리펩티드의 아미노산 서열을 도시한다.

도 21은 도 18에 도시된 것과 같은 비대칭으로 분포된 단일 Fab를 포함하는 분지된 대안적인 항-CD20 작제물을 생성하는 데 사용될 수 있는 폴리펩티드의 아미노산 서열을 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0144] 많은 치료 항체는 항체 의존성 세포독성(ADCC), 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및 보체 의존성 세포독성(CDC)과 같은 Fc 도메인의 효과기 기능을 통해 선천적 면역계의 요소를 보충함으로써 작용한다. 일부 경우에, 본 개시는 신규 치료제를 생성하기 위해 항원 결합 도메인을 적어도 2개의 Fc 도메인과 조합하는 것을 고려한다. 일부 경우에, 본 개시는 고유 생물학적 활성을 갖는 신규 치료제를 생성하기 위해 치료제, 예를 들어, 공지의 치료 항체를 함유하는 단일 Fc 도메인의 항원 결합 도메인을 적어도 2개의 Fc 도메인과 조합하는 것을 고려한다. 일부 경우에, 본원에 개시된 신규 치료제는 단일 Fc-도메인 함유 치료제, 예를 들어, 공지의 치료 항체보다 큰 생물학적 활성을 갖는다. 적어도 2개의 Fc 도메인의 존재는 효과기 기능을 강화하고, ADCP 및/또는 CDC와 조합하여 ADCC와 같은 다중 효과기 기능들을 활성화하여, 치료 분자의 효능을 증가시킬 수 있다.

[0145] 본원에 기술된 방법 및 조성물은, 함께 연결되어 동일한 단백질을 형성하는 폴리펩티드에 다중 직교 이종이량체화 기술(예를 들어, 표 3 및 표 4에서 선택된 상이한 2가지 세트의 돌연변이)을 임의로 동종이량체화 기술(예를 들어, 표 5 및 표 6에서 선택된 돌연변이)과 함께 도입함으로써 다수의 Fc 도메인을 갖는 항원 결합 단백질의 구축을 가능하게 한다. 동일한 단백질로 조립되는 폴리펩티드에 다중 이종이량체화 돌연변이를 도입하는, 본원에 기술된 설계 이론은, 예를 들어, 탠덤 Fc 도메인을 갖는 항체-유사 단백질, 대칭적으로 분지된 단백질, 및 비대칭적으로 분지된 단백질을 포함하는 매우 다양한 단백질의 구성을 생성할 수 있게 한다. 본원에 기술된 설계 원리는 원치 않는 고차 구조 또는 제어되지 않은 복합체의 형성을 불리하게 하면서 복잡한 단백질 구성의 제어된 생성을 가능하게 한다. 본원에 기재된 직교 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 링커에 의해 함께 연결되는 적어도 하나의 항원-결합 도메인 및 적어도 2개의 Fc 도메인을 함유하며, 적어도 2개의 Fc 도메인은 서로 상이한데, 예를 들어, 작제물의 적어도 하나의 Fc 도메인은 항원-결합 도메인에 연결되고, 작제물의 적어도 하나의 Fc 도메인은 항원-결합 도메인에 연결되지 않거나, 또는 작제물의 2개의 Fc 도메인은 상이한 항원-결합 도메인에 연결된다. 직교 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 링커에 의해 분리된 2개 이상의 Fc 단량체를 함유하는 하나의 긴 펩티드 사슬을 발현하고, 각각 긴 펩티드 사슬 상의 하나 이상의 특정 Fc 단량체에 우선적으로 결합하도록 설계된 단일 Fc 단량체를 함유하는 2개 이상의 상이한 짧은 펩티드 사슬을 발현함으로써 제조된다. 임의의 수의 Fc 도메인이 이러한 방식으로 직렬 연결로 연결되어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 Fc 도메인을

갖는 작제물을 생성할 수 있다.

[0146] 직교 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 그 전문이 본원에 참고로 포함되는 PCT/US2018/012689호 및 국제 공개 번호 WO/2015/168643호, WO2017/151971호, WO 2017/205436호 및 WO 2017/205434호에 기재된, 2개 이상의 Fc 도메인을 갖는 분자를 조립하기 위한 Fc 유전자 조작 방법을 사용하여 생성된다. 유전자 조작 방법은 두 세트의 이종이량체화 선택성 모듈을 사용하여 직교 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 45 내지 48; 도 12 내지 도 15: (i) 상이한 역전하 돌연변이를 갖는 이종이량체화 선택성 모듈(표 4) 및(ii) 유전자 조작 함몰부 및 돌출부를 갖는 이종이량체화 선택성 모듈(표 3))을 정확하게 조립한다. 각각의 Fc 단량체 폴리펩티드에 특정 아미노산 치환을 도입함으로써, 작제물의 특정 Fc 도메인으로 조립되도록 설계된 Fc 단량체 쌍에 임의의 이종이량체화 선택성 모듈이 혼입될 수 있다. 이종이량체화 선택성 모듈은 상이한 이종이량체화 선택성 모듈의 돌연변이를 갖는 Fc 단량체와의 회합을 불리하게 하면서, 특정 이종이량체화 선택성 모듈의 상보적 아미노산 치환을 갖는 Fc 단량체 간의 회합을 조장하도록 설계된다. 이러한 이종이량체화 돌연변이는 더 작거나 큰 복합체의 형성을 최소화하면서, 상이한 Fc 단량체 폴리펩티드가 작제물의 상이한 Fc 도메인의 원하는 직렬 구성으로 조립되도록 한다. 이러한 작제물의 특성은 약학 조성물의 안전성, 효능, 균일성, 및 신뢰성을 보장하기 위해 요구되는 실질적으로 균질한 약학 조성물의 효율적인 생성을 가능하게 한다.

[0147] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 직교 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 조립은 본원에 기재된 바와 같은 두 세트의 이종이량체화 돌연변이 사이의 상이한 정전기 스티어링 돌연변이를 사용하여 달성될 수 있다. 직교 정전기 스티어링 돌연변이의 일례는 Fc 단량체의 제1 노브에서의 E357K 및 Fc 단량체의 제1 홀에서의 K370D이며(이들 이러한 Fc 단량체는 회합하여 제1 Fc 도메인을 형성함), Fc 단량체의 제2 노브에서의 D399K 및 Fc 단량체의 제2 홀에서의 K409D이다(이들 Fc 단량체는 회합하여 제2 Fc 도메인을 형성함).

[0148] 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 상이한 결합 특징, 예컨대 상이한 결합 친화도(동일하거나 상이한 표적에 대한) 또는 상이한 표적 분자에 대한 특이성을 갖는 적어도 2개의 항원-결합 도메인(예를 들어, 2, 3, 4, 5 또는 6개의 항원-결합 도메인)을 갖는다. 이중 특이적 작제물은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 폴리펩티드 중 2개 이상이 상이한 항원-결합 도메인을 포함하는, 예를 들어, 장쇄는 하나의 제1 특이성 항원-결합 도메인을 포함하고, 단쇄는 상이한 제2 특이성 항원-결합 도메인을 포함하는, 상기 Fc 스캐폴드로부터 생성될 수 있다. 상이한 항원 결합 도메인은 상이한 경쇄, 또는 공통 경쇄를 사용할 수 있거나, 또는 scFv 도메인으로 이루어질 수 있다.

[0149] 이중 특이적 및 삼중 특이적 작제물은 2개의 상이한 세트의 이종이량체화 돌연변이, 즉 직교 이종이량체화 돌연변이를 사용하여 생성될 수 있다. 이러한 이종이량체화 서열은 다른 이종이량체화 서열과의 회합을 불리하게 하는 방식으로 설계되어야 한다. 이러한 설계는 본원에 기재된 바와 같이 두 세트의 이종이량체화 돌연변이 사이의 상이한 정전기 스티어링 돌연변이 및/또는 두 세트의 이종이량체화 돌연변이 사이의 상이한 돌출부-함몰부 돌연변이를 사용하여 달성될 수 있다. 직교 정전기 스티어링 돌연변이의 일례는 제1 노브 Fc에서의 E357K, 제1 홀 Fc에서의 K370D, 제2 노브 Fc에서의 D399K, 및 제2 홀 Fc에서의 K409D이다.

[0150] **I. Fc 도메인 단량체**

[0151] Fc 도메인 단량체는 힌지 도메인, CH_2 항체 불변 도메인 및 CH_3 항체 불변 도메인(예를 들어, 선택적인 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG1 힌지, CH_2 항체 불변 도메인 및 CH_3 항체 불변 도메인)의 적어도 일부를 포함한다. Fc 도메인 단량체는 면역글로불린 항체 동형 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD일 수 있다. Fc 도메인 단량체는 또한 임의의 면역글로불린 항체 동형(예를 들어, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)일 수 있다. 또한, Fc 도메인 단량체는, 예를 들어 IgG1로부터의 힌지 및 CH_2를 갖거나, IgA로부터의 CH_3를 갖거나, IgG1로부터의 힌지 및 CH_2를 갖지만 IgG3로부터의 CH_3를 갖는 혼성체일 수 있다. Fc 도메인 단량체의 이량체는 백혈구의 표면에 위치한 수용체인 Fc 수용체, 예를 들어, FcγRIIIa에 결합할 수 있는 (본원에서 추가로 정의된) Fc 도메인이다. 본 명세서에서, Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인은 서로의 회합을 촉진하기 위해 CH_3-CH_3 항체 불변 도메인의 계면에 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 다른 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 N-말단 또는 C-말단에 부착된 추가 모이어티, 예를 들어, 알부민-결합 펩티드 또는 정제 펩티드를 포함한다. 본 명세서에서, Fc 도메인 단량체는 임의의 유형의 항체 가변 영역, 예를 들어, V_H, V_L, 상보성 결정 영역(CDR) 또는 초가변 영역(HVR)을 함유하지 않는다.

[0152] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc

도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 서열번호 42의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 서열번호 43, 44, 46, 47, 48 및 50~53 중 어느 하나의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 Fc 도메인 단량체는 서열번호 48, 52, 및 53 중 어느 하나의 서열과 적어도 95% 동일한 (적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0153] 서열 번호 42

[0154] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0155] 서열 번호 44

[0156] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0157]

[0158] 서열 번호 46

[0159] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0160] 서열 번호 48

[0161] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0162] 서열 번호 50

[0163] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0164] 서열 번호 51

[0165] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0166] 서열 번호 52

[0167] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0168] 서열 번호 53

[0169] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0171] **II. Fc 도메인**

[0172] 본원에 정의된 바와 같이, Fc 도메인은 CH_3 항체 불변 도메인 사이의 상호작용으로 이량체화된 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다. Fc 도메인은 Fc 수용체, 예를 들어, Fc-감마 수용체(즉, Fcɣ 수용체(FcɣR)), Fc-알파 수용체(즉, Fcα 수용체(FcαR)), Fc-엡실론 수용체(즉, Fcε 수용체 (FcεR)) 및/또는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 결합하는 최소 구조를 형성한다. 일부 구현예에서, 본 개시 내용의 Fc 도메인은 Fcɣ 수용체(예를 들어, FcɣRI(CD64), FcɣRIIa(CD32), FcɣRIIb(CD32), FcɣRIIIa(CD16a), FcɣRIIIb(CD16b)) 및/또는 FcɣRIV 및/또는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 결합한다.

[0173] **III. 항원 결합 도메인**

[0174] 항원 결합 도메인은 특정 표적 분자 또는 표적 분자의 세트에 결합하는 임의의 단백질 또는 폴리펩티드일 수 있다. 항원 결합 도메인은 표적 분자에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다. 항원 결합 도메인은 항체의 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 항체의 단편 또는 항체-작제물, 예를 들어, 표적 항원에 결합하는 항체의 최소 부분일 수 있다. 또한, 항원 결합 도메인은 피브로넥틴 기반 결합 단백질(예를 들어, FN3 모노바디)과 같은 표적에 특이적으로 결합하는 합성 유전자 조작 펩티드일 수 있다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 리간드 또는 수용체일 수 있다. 단편 항원-결합(Fab) 단편은 표적 항원에 결합하는 항체 상의 영역이다. 이는 중쇄 및 경쇄 각각의 하나의 불변 도메인 및 하나의 가변 도메인을 구성한다. Fab 단편은 V_H, V_L, C_H1 및 C_L 도메인을 포함한다. 가변 도메인 V_H 및 V_L은 각각 단량체의 아미노 말단에 3개의 상보성 결정 영역(CDR)의 세트를 함유한다. Fab 단편은 면역글로불린 항체 동형 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD일 수 있다. 또한, Fab 단편 단량체는 임의의 면역글로불린 항체 동형(예를 들어, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)일 수 있다. 일부 구현예에서, Fab 단편은 프로테아제 처리(예를 들어, 펩신) 후에 면역글로불린의 제2 동일 Fab 단편에 공유 결합으로 부착되어 $F(ab')_2$ 단편을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, Fab는, 예를 들어, 도메인 사이의 링커와 융합된 가변 및 불변 도메인 모두를 포함하는 단일 폴리펩티드로 발현될 수 있다.

[0175] 일부 구현예에서, Fab 단편의 일부만이 항원 결합 도메인으로 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, Fab의 경쇄 성분(V_L + C_L)만이 사용될 수 있거나, Fab의 중쇄 성분(V_H + C_H)만이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, Fab 가변 영역의 V_H 및 V_L 사슬의 융합 단백질인 단일-사슬 가변 단편(scFv)이 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, 직렬 Fd 세그먼트 쌍(V_H-C_H1-V_H-C_H1)을 포함하고, 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 항원 결합 영역 쌍을 형성하는 선형 항체가 사용될 수 있다.

[0176] 항원 결합 도메인은 본원에 기재된 Fc-함유 폴리펩티드 내의 다양한 위치에서 다양한 수로 배치될 수 있다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 항원 결합 도메인은 Fc-함유 폴리펩티드의 N-말단, C-말단 및/또는 Fc 도메인 사이에 배치될 수 있다. 일부 구현예에서, 폴리펩티드 또는 펩티드 링커는 항원 결합 도메인, 예를 들어, Fab 도메인, 및 Fc-함유 폴리펩티드의 Fc 도메인 사이에 배치될 수 있다. 일부 구현예에서, 일련의 연결된 다중 항원 결합 도메인(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 항원 결합 도메인)은 폴리펩티드 사슬을 따라 임의의 위치에 배치될 수 있다(문헌[Wu et al., Nat. Biotechnology, 25:1290-1297, 2007]).

[0177] 일부 구현예에서, 2개 이상의 항원 결합 도메인은 Fc-도메인 함유 폴리펩티드 상에 또는 다수의 Fc-도메인 함유 폴리펩티드로 이루어진 단백질 복합체 상에서 서로에 대해 다양한 거리로 배치될 수 있다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 항원 결합 도메인은, 예를 들어, 단클론 항체에서와 같이 동일한 Fc 도메인 상에서 서로 가까이 배치된다. 일부 구현예에서, 2개 이상의 항원 결합 도메인은 서로에 대해 더 멀리 떨어져 배치되는데, 예를 들어, 항원 결합 도메인은 단백질 구조 상에서 1, 2, 3, 4 또는 5개, 또는 그 이상의 Fc 도메인에 의해 서로 분리된다.

[0178] 일부 구현예에서, 본 발명의 항원 결합 도메인은 표 1a 및 표 1b에 열거된 표적 또는 항원, 표적 또는 항원에 대한 표 1a 및 표 1b에 열거된 CDR 서열 중 1, 2, 3, 4, 5개 또는 6개 모두를 포함하며, 이는 하기 표 1a 및 표 1b에 추가로 상세히 제공된다.

[0179] [표 1a] CDR 서열

표적	항체명	CDR1-IMGT (중쇄)	CDR2-IMGT (중쇄)	CDR3-IMGT (중쇄)	CDR1-IMGT (경쇄)	CDR2-IMGT (경쇄)	CDR3-IMGT (경쇄)
B7-H3	에노브리투주맙	GFTFSSFG (서열 번호 76)	ISSDSSAI (서열 번호 106)	GRGRENIYYGSRLDY (서열 번호 137)	QNVDTN (서열 번호 171)	SAS	QQYNNYPFT (서열 번호 201)
베타-아밀로이드	간테네투맙	GFTFSSYA (서열 번호 77)	INASGTRT (서열 번호 107)	ARGKGNTHKPYGYVRYFDV (서열 번호 138)	QSVSSSY (서열 번호 172)	GAS	LQIYNMPIT (서열 번호 202)
CCR4	모가물리주맙	GFIFSNYG (서열 번호 78)	ISSASTYS (서열 번호 108)	GRHSDGNFAFGY (서열 번호 139)	RNIVHINGDTY (서열 번호 173)	KVS	FQGSLLPWT (서열 번호 203)
CD19	이네빌리주맙	GFTFSSSW (서열 번호 79)	IYPGDGDT (서열 번호 109)	ARSGFITTVRDFDY (서열 번호 140)	ESVDTFGISF (서열 번호 174)	EAS	QQSKEVPFT (서열 번호 204)
CD20	오비누투주맙	GYAFSYSW (서열 번호 80)	IFPGDGDT (서열 번호 110)	ARNVFDGYWLVY (서열 번호 141)	KSLLHSNGITY (서열 번호 175)	QMS	AQNLELPYT (서열 번호 205)
CD20	오카라투주맙	GRTFTSYNMH (서열 번호 81)	AIYPLTGDT (서열 번호 111)	ARSTYVGGDWQFDV (서열 번호 142)	SSVPY (서열 번호 176)	ATS	QQWLSNPPT (서열 번호 206)
CD20	리툭시맙	GYTFTSYN (서열 번호 82)	IYPGNGDT (서열 번호 112)	CARSTYYGGDWYFNV (서열 번호 143)	SSVSY (서열 번호 177)	ATS	QQWTSNPPT (서열 번호 207)
CD20	우블리툭시맙	GYTFTSYN (서열 번호 82)	IYPGNGDT (서열 번호 112)	ARYDYNYAMDY (서열 번호 144)	SSVSY (서열 번호 177)	ATS	QQWTFNPPT (서열 번호 208)
CD20	벨투주맙	GYTFTSYN (서열 번호 82)	IYPGNGDT (서열 번호 112)	ARSTYYGGDWYFDV (서열 번호 145)	SSVSY (서열 번호 177)	ATS	QQWTSNPPT (서열 번호 207)
CD22	에프라투주맙	GYTFTSYW (서열 번호 83)	INPRNDYT (서열 번호 113)	ARRDITTFY (서열 번호 146)	QSVLYSANHKNY (서열 번호 178)	WAS	HQYLSS (서열 번호 209)
CD37	오틀레르투주맙	GYSFTGYN (서열 번호 84)	IDPYYGGT (서열 번호 114)	ARSVGPFDS (서열 번호 147)	ENVYSY (서열 번호 179)	FAK	QHHSDNPWT (서열 번호 210)
CD38	다라투무맙	GFTFNSFA (서열 번호 85)	ISGSGGGT (서열 번호 115)	AKDKILWFGEPVFDY (서열 번호 148)	QSVSSY (서열 번호 180)	DAS	QQRSNWPPT (서열 번호 211)

[0180]

CD38	이사툭시맙	GYTFTDYW (서열 번호 86)	IYPGDGDT (서열 번호 109)	ARGDYYGSNSLDY (서열 번호 149)	QDVSTV (서열 번호 181)	SAS	QQHYSPPYT (서열 번호 212)
CD3 엡실론	포랄루맙	GFKFSGYG (서열 번호 87)	IWYDGSKK (서열 번호 116)	ARQMGYWHFDLW (서열 번호 150)	QSVSSY (서열 번호 180)	DAS	QQRSNWPPLT (서열 번호 213)
CD52	알렘투주맙	GFTFTDFY (서열 번호 88)	IRDKAKGYTT (서열 번호 117)	AREGHTAAPFDY (서열 번호 151)	QNIDKY (서열 번호 182)	NTN	LQHISRPRT (서열 번호 214)
CD105	카로룩시맙	GFTFSDAW (서열 번호 89)	IRSKASNHAT (서열 번호 118)	TRWRRFFDS (서열 번호 152)	SSVSY (서열 번호 177)	ATS	QQWSSNPLT (서열 번호 215)
CD147	cHAb18	GFTFSDAW (서열 번호 89)	IRSANNHAPT (서열 번호 119)	TRDSTATH (서열 번호 153)	QSVIND (서열 번호 183)	TAS	QQDTSPP (서열 번호 216)
c-Met	ABT-700	GYIFTAYT (서열 번호 90)	IKPNNGLA (서열 번호 120)	ARSEITTEFDY (서열 번호 154)	ESVDSYANSF (서열 번호 184)	RAS	QQSKEDPLT (서열 번호 217)
CTLA-4	이필리무맙	GFTFSSYT (서열 번호 91)	ISYDGNNK (서열 번호 121)	ARTGWLGPFDY (서열 번호 155)	QSVGSSY (서열 번호 185)	GAF	QQYGSSPWT (서열 번호 218)
EGFR2	마르게룩시맙	GFNIKDTY (서열 번호 92)	IYPTNGYT (서열 번호 122)	SRWGGDGFYAMDY (서열 번호 156)	QDVNTA (서열 번호 186)	SAS	QQHYTTPPT (서열 번호 219)
EGFR3	룸레투주맙	GYTFRSSY (서열 번호 93)	IYAGTGSP (서열 번호 123)	ARHRDYYSNSLTY (서열 번호 157)	QSVLNSGNQKNY (서열 번호 187)	WAS	QSDYSYPYT (서열 번호 220)
EphA3	이파보투주맙	GYTFTGYW (서열 번호 94)	IYPGSGNT (서열 번호 124)	ARGGYYEDFDS (서열 번호 158)	QGIISY (서열 번호 188)	AAS	GQYANYPYT (서열 번호 221)
GD3	에크로멕시맙	GFAFSHYA (서열 번호 95)	ISSGGSGT (서열 번호 125)	TRVKLGTYYFDS (서열 번호 159)	QDISNY (서열 번호 189)	YSS	HQYSKLP (서열 번호 222)
GPC3	코드리투주맙	GYTFTDYE (서열 번호 96)	LDPKTGDT (서열 번호 126)	TRFYSYTY (서열 번호 160)	QSLVHSNRNTY (서열 번호 190)	KVS	SQNTHVPPT (서열 번호 223)
KIR2DL1/2/3	리릴루맙	GGTFSFYA (서열 번호 97)	FIPIFGAA (서열 번호 127)	ARIPSGSYYYDYDMDV (서열 번호 161)	QSVSSY (서열 번호 180)	DAS	QQRSNWMYT (서열 번호 224)
MUC5AC	엔시룩시맙	GFSLSKFG (서열 번호 98)	IWGDGST (서열 번호 128)	VKPGGDY (서열 번호 162)	SSISY (서열 번호 191)	DTS	HQRDSYPWT (서열 번호 225)

[0181]

포스파티딜세린	바비툭시맙	GYSFTGYN (서열 번호 84)	IDPYYGDT (서열 번호 129)	VKGGYYGHWYFDV (서열 번호 163)	QDIGSS (서열 번호 192)	ATS	LQYVSSPPT (서열 번호 226)
RHD	롤레두맙	GFTFKNYA (서열 번호 99)	ISYDGRNI (서열 번호 130)	ARPVRSRWLQLGLEDAFHI (서열 번호 164)	QDIRNY (서열 번호 193)	AAS	QQYYNSPPT (서열 번호 227)
SLAMF7	엘로투주맙	GFDFSRYW (서열 번호 100)	INPDSSTI (서열 번호 131)	ARPDGNYWYFDV (서열 번호 165)	QDVGIA (서열 번호 194)	WAS	QQYSSYPYT (서열 번호 228)
HER2	트라스투주맙	GFNIKDTY (서열 번호 92)	IYPTNGYT (서열 번호 122)	SRWGGDGFYAMDY (서열 번호 156)	QDVNTA (서열 번호 186)	SAS	QQHYTTPPT (서열 번호 219)
OX40	옥셀루맙	GFTFNSYA (서열 번호 101)	ISGSGGFT (서열 번호 132)	AKDRLVAPGTFDY (서열 번호 166)	QGISSW (서열 번호 195)	AAS	QQYNSYPYT (서열 번호 229)
PD-L1	아벨루맙	GFTFSSYI (서열 번호 102)	IYPSGGIT (서열 번호 133)	ARIKLGTVTTVDY (서열 번호 167)	SSDVGGYNY (서열 번호 196)	DVS	SSYTSSSTRV (서열 번호 230)
CD135	4G8-SDIEM	SYWMH (서열 번호 103)	EIDPSDSYKDYNQKFKD (서열 번호 134)	AITTTPFDF (서열 번호 168)	RASQSISNNLH (서열 번호 197)	YSQSIS (서열 번호 200)	QQSNTWPYT (서열 번호 231)
HIV1	VRC01LS	GYTFLNCPI (서열 번호 104)	GWMKPRGGAVN (서열 번호 135)	ARYFFGSSPNWYFD (서열 번호 169)	SQYGSLAW (서열 번호 198)	GGS	QQYEFFGQGT (서열 번호 232)
HER3	KTN3379	GFTFSYYYMQ (서열 번호 105)	IGSSGGVTN (서열 번호 136)	ARVGLGDAFDIWQQ (서열 번호 170)	SLSNIGLN (서열 번호 199)	SRN	AAWDDSPPG (서열 번호 233)

[0182]

[0183] [표 1b] 가변 도메인 서열

항체	VH/CH1	VL
아테졸리주맙 PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVA WISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTS KNTAYLQMNSLRAEDTAVYCARRHW PGGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDV STAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYLYHPATFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
더발루맙 PD-L1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVA NIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNA KNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG GWFGELAFDYWGQGTLVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PASIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVS SSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGI PDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSLPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
트레멜리무맙 CTLA-4	QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS SYGMHWVRQA PGKGLEWVAV IWYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDP RGATLYYYYY GMDVWGQGTT VTVSSASTKG PSVFPLAPCS RSTSESTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSN FGTQTYTCNV DHKPSNTKVD KTVERKCCVE CPPCPAPPVA GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVQFN	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIN SYLDWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQYYSTPFTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFN RGEC

[0184]

	WYVDGVEVHN AKTKPREEQF NSTFRVVSVL TVVHQDWLNG KEYKCKVSNK GLPAPIEKTI SKTKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP MLDSDGSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG K	
이사툭시맙 CD38	QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKAS GYTFTDYWMQWVKQRPGQGLEWIG TIYPGDGDTGYAQKFQGKATLTADKS SKTVYMHLSSLASEDSAVYYCARGDY YGSNSLDYWGQGTSVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKASQDV STVVAWYQQKPGQSPRRLIYSASYRYIGV PDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYY CQQHYSPPYTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
MOR 202 CD38	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GFTFSSYYMNWVRQAPGKGLEWVS GISGDPSNTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLP LVYTGFAYWGQGTLVTV (VH 만 해당)	DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHY YVYWYQQKPGQAPVLVIYGDSKRPSGIP ERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYYC QTYTGGASLVFGGGTKLTVLGQ

[0185]

[0186] Fc-항원 결합 도메인 작제물 45의 항원 결합 도메인(도 12의 4504/4512 및 4518/4520)은 표 1a 및 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0187] Fc-항원 결합 도메인 작제물 46의 항원 결합 도메인(도 13의 4610/4622 및 4614/4620)은 표 1a 및 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0188] Fc-항원 결합 도메인 작제물 47의 항원 결합 도메인(도 14의 4712/4720 및 4716/4722)은 표 1a 및 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0189] Fc-항원 결합 도메인 작제물 48의 항원 결합 도메인(도 15의 4816/4832, 4820/4834, 4824/4836, 및 4828/4838)은 표 1a 및 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0190] 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인(예를 들어, Fab 또는 scFv)은 표 2 또는 표 1B에 열거된 항체의 V_H 및 V_L 사슬을 포함한다. 일부 구현예에서, Fab는 표 2 또는 표 1B에 열거된 항체의 V_H 및 V_L 사슬에 포함된 CDR을 포함한다. 일부 구현예에서, Fab는 표 2에 열거된 항체의 V_H 및 V_L 사슬에 포함된 CDR을 포함하며, V_H 및 V_L 서열의 나머지는 표 2의 항체의 V_H and V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 또는 적어도 99.5% 동일하다. 일부 구현예에서, Fab는 표 1B에 열거된 항체의 VH 및 VL 사슬에 함유된 CDR을 포함하며, VH 및 VL 서열의 나머지는 표 1B의 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 또는 적어도 99.5% 동일하다.

표 2

[0191]

표적	항체명
AbGn-7 항원	AbGn-7
AMHR2	GM-102
B7-H3	DS-5573a
CA19-9	MVT-5873
CAIX	항-CAIX
CD19	XmAb5871

CD33	BI-836858
CD37	BI-836826
CD38	MOR-202
CD47	Anti-CD47
CD70	ARGX-110
CD70	ARGX-110
CD98	IGN-523
CD147	메투주맙
CD157	MEN-1112
c-Met	ARGX-111
EGFR2	GT-Mab 7.3-GEX
EphA2	DS-8895a
FGFR2	FPA-144
GM2	BIW-8962
HPA-1a	NAITgam
ICAM-1	BI-505
IL-3R알파	탈라코투주맙
JL-1	류코툭시맙
카파 골수종 항원	MDX-1097
KIR32DL2	IPH-4102
LAG-3	GSK-2381781
P. aeruginosa serotype O1	AR-104
pGlu-abeta	PBD-C06
TA-MUC1	GT-MAB 2.5-GEX

[0192] Fc-항원 결합 도메인 작제물 45의 항원 결합 도메인(도 12의 4504/4512 및 4518/4520)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0193] Fc-항원 결합 도메인 작제물 46의 항원 결합 도메인(도 13의 4610/4620 및 4614/4622)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0194] Fc-항원 결합 도메인 작제물 47의 항원 결합 도메인(도 14의 4712/4720 및 4716/4722)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0195] Fc-항원 결합 도메인 작제물 48의 항원 결합 도메인(도 15의 4816/4832, 4820/4834, 4824/4836, 및 4828/4838)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0196] Fc-항원 결합 도메인 작제물 45의 항원 결합 도메인(도 12의 4504/4512 및 4518/4520)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0197] Fc-항원 결합 도메인 작제물 46의 항원 결합 도메인(도 13의 4610/4620 및 4614/4622)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0198] Fc-항원 결합 도메인 작제물 47의 항원 결합 도메인(도 14의 4712/4720 및 4716/4722)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0199] Fc-항원 결합 도메인 작제물 48의 항원 결합 도메인(도 15의 4816/4832, 4820/4834, 4824/4836, 및 4828/4838)은 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있다.

[0200] Fc-항원 결합 도메인 작제물 45의 항원 결합 도메인(도 12의 4504/4512 및 4518/4520)은 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있고, V_H 및 V_L 서열의 나머지는 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하다.

[0201] Fc-항원 결합 도메인 작제물 46의 항원 결합 도메인(도 13의 4610/4620 및 4614/4622)은 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있고, V_H 및 V_L 서열의 나머지는 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하다.

[0202] Fc-항원 결합 도메인 작제물 47의 항원 결합 도메인(도 14의 4712/4720 및 4716/4722)은 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있고, V_H 및 V_L 서열의 나머지는 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하다.

[0203] Fc-항원 결합 도메인 작제물 48의 항원 결합 도메인(도 15의 4816/4832, 4820/4834, 4824/4836, 및 4828/4838)은 V_H 및 V_L 서열에 함유된 CDR 서열을 각각 포함할 수 있고, V_H 및 V_L 서열의 나머지는 표 2 또는 표 1b에 열거된 항체 중 어느 하나의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 또는 적어도 99.5% 동일하다.

[0204] **IV. 이량체화 선택성 모듈**

[0205] 본 개시 내용에서, 이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인을 형성하는 2개의 Fc 도메인 단량체의 선호되는 페어링을 용이하게 하는 Fc 도메인 단량체 내의 성분 또는 선택 아미노산을 포함한다. 구체적으로, 이량체화 선택성 모듈은 2개의 Fc 도메인 단량체의 상호작용하는 CH_3 항체 불변 도메인의 계면에 위치된 아미노산 치환을 포함하는 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인 쌍의 일부이다. 이량체화 선택성 모듈에서, 아미노산 치환은 이들 치환을 위해 선택된 아미노산의 양립성의 결과로서 2개의 CH_3 항체 불변 도메인의 단량체화를 유리하게 한다. 선호되는 Fc 도메인의 최종 형성은 이량체화 선택성 모듈이 결여되거나 이량체화 선택성 모듈 내의 비양립성 아미노산 치환을 갖는 Fc 도메인 단량체로부터 형성되는 다른 Fc 도메인에 대해 선택적이다. 이러한 유형의 아미노산 치환은 QuikChange® 돌연변이 유발과 같이 당업계에 잘 알려진 통상적인 분자 클로닝 기술을 사용하여 이루어질 수 있다.

[0206] 일부 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 CH_3 항체 불변 도메인의 (본원에서 추가로 기재된) 유전자 조작 함몰부를 포함한다. 다른 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 CH_3 항체 불변 도메인의 (본원에서 추가로 기재된) 유전자 조작 돌출부를 포함한다. Fc 도메인을 선택적으로 형성하기 위해, 양립성 이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체, 예컨대, 유전자 조작 함몰부를 함유하는 하나의 CH_3 항체 불변 도메인 및 유전자 조작 돌출부를 함유하는 다른 하나의 CH_3 항체 불변 도메인은 결합하여 Fc 도메인 단량체의 돌출부-함몰부 쌍을 형성한다. 유전자 조작 돌출부 및 유전자 조작 함몰부는 양립성 이종이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 이종이량체화를 촉진하기 위해 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인에서 이루어질 수 있는 이종이량체화 선택성 모듈의 예이다.

[0207] 다른 구현예에서, 양하전 아미노산 치환을 함유하는 이량체화 선택성 모듈을 갖는 Fc 도메인 단량체 및 음하전 아미노산 치환을 함유하는 이량체화 선택성 모듈을 갖는 Fc 도메인 단량체는 (본원에서 추가로 기재된) 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양하전 및 음하전 아미노산 치환 중 하나 이상을 포함할 수 있다: K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 일 실시예에서, 양하전 아미노산 치환, 예를 들어, D356K 또는 E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 음하전 아미노산 치환, 예를 들어, K370D 또는 K370E를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K370D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E356K 및 D399K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K392D 및 K409D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 역전하 아미노산 치환은 이종이량체화 선택성 모듈로 사용될 수 있는데, 상이하지만 양립성인 역전하 아미노산 치환을 함유하는 2개의 Fc 도메인 단량체는 결합하여 이종이량체 Fc 도메인을 형성한다. 특이적 이량체화 선택성 모듈은 아래

에서 추가로 기재되는 표 3 및 표 4에 제한 없이, 추가로 열거되어 있다.

[0208] 다른 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 CH_3 도메인 사이의 계면에서 하전된 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치에 동일한 역전하 돌연변이를 함유하는 동종이량체화 선택성 모듈을 포함한다. 동종이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화를 촉진하여 동종이량체 Fc 도메인을 형성하는 역전하 아미노산 치환이다. 2개의 Fc 도메인 단량체에서 2개 이상의 상보적인 잔기 쌍의 두 구성원의 전하를 역전시킴으로써, 돌연변이된 Fc 도메인 단량체는 동일한 돌연변이된 서열의 Fc 도메인 단량체에 대한 상보성을 유지하지만, 이러한 돌연변이가 없는 Fc 도메인 단량체에 대해 더 낮은 상보성을 갖는다. 일 구현예에서, Fc 도메인은 이중 돌연변이 K409D/D399K, K392D/D399K, E357K/K370E, D356K/K439D, K409E/D399K, K392E/D399K, E357K/K370D 또는 D356K/K439E를 포함하는 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 또 다른 구현예에서, Fc 도메인은 임의의 쌍의 이중 돌연변이, 예를 들어 K409D/D399K/E357K/K370E를 결합하는 4중 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 동종이량체화 선택성 모듈의 예는 표 5 및 표 6에 추가로 도시되어 있다. 동종이량체화 Fc 도메인을 사용하여 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 대한 대칭 분지점을 생성할 수 있다. 일 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 하나의 동종이량체화 Fc 도메인을 갖는다. 일 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 2개 이상의 동종이량체화 Fc 도메인, 예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 동종이량체화 도메인을 갖는다. 일 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 동종이량체화 Fc 도메인을 갖는다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 하나의 동종이량체화 선택성 모듈을 갖는다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 2개 이상의 동종이량체화 선택성 모듈, 예를 들어, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 동종이량체화 선택성 모듈을 갖는다.

[0209] 추가 구현예에서, (i) 적어도 하나의 역전하 돌연변이 및 (ii) 적어도 하나의 유전자 조작 함몰부 또는 적어도 하나의 유전자 조작 돌출부를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 (i) 적어도 하나의 역전하 돌연변이 및 (ii) 적어도 하나의 유전자 조작 돌출부 또는 적어도 하나의 유전자 조작 함몰부를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체와 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 예를 들어, 역전하 돌연변이 K370D 및 유전자 조작 함몰부 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 역전하 돌연변이 E357K 및 유전자 조작 돌출부 S354C 및 T366W를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체는 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다.

[0210] 이러한 Fc 도메인의 형성은 CH_3 항체 불변 도메인의 양립성 아미노산 치환에 의해 촉진된다. 비양립성 아미노산 치환을 함유하는 2개의 이량체화 선택성 모듈, 예를 들어, 둘 모두가 CH_3-CH_3 계면에서 유전자 조작 함몰부를 함유하는 것, 둘 모두가 유전자 조작 돌출부를 함유하는 것, 또는 둘 모두가 동일한 하전 아미노산을 함유하는 것은 이종이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하지 않을 것이다.

[0211] 이종이량체화 Fc 도메인의 다중 쌍을 사용하여 다중 비대칭 분지점, 다중 비분지점, 또는 비대칭 분지점 및 비분지점 모두를 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 생성할 수 있다. 다중의 별개의 이종이량체화 기술(예를 들어, 표 3 및 표 4 참조)이 상이한 Fc 도메인에 통합되어 이러한 Fc 도메인-함유 작제물을 조립한다. 이종이량체화 기술은 Fc 단량체의 원치 않는 페어링에 대한 최소 회합(직교성)을 갖는다. 2개의 상이한 Fc 이종이량체화 방법, 예컨대 노브-홀(표 3) 및 정전기 스티어링(표 4)을 상이한 Fc 도메인에서 사용하여 원하는 작제물로의 폴리펩티드 사슬의 조립을 제어할 수 있다. 대안적으로, 2개의 상이한 노브-홀 변이체(예를 들어, 표 3으로부터 선택된 2개의 별개의 돌연변이 세트) 또는 2개의 상이한 정전기 스티어링 변이체(예를 들어, 표 4로부터 선택된 2개의 별개의 돌연변이 세트)를 상이한 Fc 도메인에서 사용하여 원하는 작제물로의 폴리펩티드 사슬의 조립을 제어할 수 있다. 이종이량체화 Fc 도메인의 Fc 도메인 단량체를 상이한 폴리펩티드 사슬, 다중 Fc 도메인을 갖는 폴리펩티드 사슬 상에 배치하여 비대칭 분지를 생성할 수 있다. 이종이량체화 Fc 도메인의 하나의 Fc 도메인 단량체를 다중 Fc 도메인을 갖는 폴리펩티드 사슬에 그리고 이종이량체화 Fc 도메인의 또 다른 Fc 도메인 단량체를 단일 Fc 도메인을 갖는 폴리펩티드 사슬에 배치하여, 비분지점을 생성할 수 있다.

[0212] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 선형이다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 분지점을 갖지 않는다. 예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 2개 이상의 Fc 도메인 단량체를 갖는 하나의 큰 펩티드(여기서, 적어도 2개의 Fc 도메인 단량체는 상이하며(즉, 상이한 이종이량체화 돌연변이를 가짐)), 및 각각 상이한 단일 Fc 도메인 단량체를 갖는 2개 이상의 더 작은 펩티드(즉, 상이한 이종이량체화 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 포함하는 2개 이상의 작은 펩티드)로 조립될 수 있다. 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 서로 양립할 수 없는 2개 이상의 이량체화 선택성 모듈을 가질 수 있으며, 예를 들어, 적어도 2개의 비양립성 이량체화 선택성 모듈은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적절한 형성을 촉진하거나 용이하게 하는, 표 3 및/또는 표 4로부터 선택되어, 각각의 더 작은 펩티드의 Fc 도메인 단량체는 큰 펩티드 상

의 이의 양립성 Fc 도메인 단량체(들)과 회합한다. 일부 구현예에서, 긴 펩티드 상의 제1 Fc 도메인 단량체 또는 Fc 도메인 단량체의 제1 서브세트는 제1 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체에서 아미노산 치환에 의해 형성된 제1 이량체화 선택성 모듈의 일부에 양립성인 제1 이량체화 선택성 모듈의 일부를 형성하는 아미노산 치환을 함유한다. 긴 펩티드 상의 제2 Fc 도메인 단량체 또는 Fc 도메인 단량체의 제2 서브세트는 제2 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체에서 아미노산 치환에 의해 형성된 제2 이량체화 선택성 모듈의 일부에 양립성인 제2 이량체화 선택성 모듈의 일부를 형성하는 아미노산 치환을 함유한다. 제1 이량체화 선택성 모듈은 제1 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체에 대한 긴 펩티드 상의 제1 Fc 도메인 단량체(또는 Fc 도메인 단량체의 제1 서브세트)의 결합을 유리하게 하면서, 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체 사이의 결합을 불리하게 한다. 유사하게, 제2 이량체화 선택성 모듈은 제2 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체에 대한 긴 펩티드 상의 제2 Fc 도메인 단량체(또는 Fc 도메인 단량체의 제2 서브세트)의 결합을 유리하게 하면서, 제2 Fc 도메인 단량체와 제1 짧은 펩티드의 Fc 도메인 단량체 사이의 결합을 불리하게 한다.

[0213] 특정 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 제1 이량체화 선택성 모듈을 갖는 제1 Fc 도메인 및 제2 이량체화 선택성 모듈을 갖는 제2 Fc 도메인을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인은 표 3으로부터 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체(예를 들어, Fc 단량체는 S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 역전하 돌연변이를 가질 수 있음), 및 표 3으로부터 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체(예를 들어, Fc 단량체는 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 역전하 돌연변이를 가질 수 있음)로부터 조립된다. 일부 구현예에서, 제2 Fc 도메인은 표 3으로부터 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체(예를 들어, Fc 단량체는 D356K 및 D399K 역전하 돌연변이를 가질 수 있음), 및 표 3으로부터 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 적어도 하나의 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체(예를 들어, Fc 단량체는 K392D 및 K409D 역전하 돌연변이를 가질 수 있음)로부터 조립된다.

[0214] 또한, 정의된 Fc 도메인 단량체를 갖는 Fc 도메인의 형성을 촉진하는 데 사용된 다른 방법은 류신 지퍼의 단량체 α-나선을 Fc 도메인 단량체 각각에 C-말단 융합하여 이종이량체의 형성을 가능하게 하는 LUZ-Y 접근법(미국 특허 출원 공개 제WO2011034605호)뿐 아니라, 각각이 IgA 및 IgG CH_3 서열의 교차하는 세그먼트를 포함하는 이종이량체 Fc 도메인 단량체를 갖는 Fc 도메인을 생성하는 SEED(strand-exchange engineered domain) 바디 접근법(문헌[Davis et al., *Protein Eng Des Sel*. 23:195-202, 2010])을 제한 없이 포함한다.

[0215] **V. 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부**

[0216] 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부(또는 "노브-홀" 전략)는 Carter 및 동료 연구자들에 의해 설명된다(문헌[Ridgway et al., *Protein Eng.* 9:617-612, 1996]; 문헌[Atwell et al., *J Mol Biol.* 270:26-35, 1997]; 문헌[Merchant et al., *Nat Biotechnol.* 16:677-681, 1998]). 노브-홀의 상호작용은 이종이량체 형성을 유리하게 하는 반면, 노브-노브 및 홀-홀 상호작용은 입체적 충돌 및 유리한 상호작용의 결실로 인해 동종이량체 형성을 저해한다. "노브-홀" 기술은 미국 특허 번호 제5,731,168호에도 개시되어 있다.

[0217] 본 개시 내용에서, 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부는 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조에 사용된다. 유전자 조작 함몰부는 단백질의 원래의 아미노산이 측쇄 부피가 더 작은 상이한 아미노산으로 대체될 때 생성되는 빈 공간이다. 유전자 조작 돌출부는 단백질의 원래의 아미노산이 측쇄 부피가 더 큰 상이한 아미노산으로 대체될 때 생성되는 돌출이다. 구체적으로, 대체된 아미노산은 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인에 있고 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체화에 관여한다. 일부 구현예에서, 하나의 CH_3 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부는 또 다른 CH_3 항체 불변 도메인의 유전자 조작 돌출부를 수용하도록 생성되어, CH_3 항체 불변 도메인 둘 모두는 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체화를 촉진하거나 유리하게 하는 (상술한) 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이종이량체화 선택성 모듈)로서 작용한다. 다른 구현예에서, 하나의 CH_3 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부는 또 다른 CH_3 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산을 더 잘 수용하도록 생성된다. 또 다른 구현예에서, 하나의 CH_3 항체 불변 도메인의 유전자 조작 돌출부는 또 다른 CH_3 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산과 추가 상호작용을 형성하도록 생성된다.

[0218] 유전자 조작 함몰부는 타이로신 또는 트립토판과 같은 더 큰 측쇄를 함유하는 아미노산을 알라닌, 발린 또는 트

레오닌과 같은 더 작은 측쇄를 함유하는 아미노산으로 대체함으로써 구성될 수 있다. 구체적으로, (상기에 추가로 기재된) 일부 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이종이량체화 선택성 모듈)은 CH_3 항체 불변 도메인에 Y407V 돌연변이와 같은 유전자 조작 함몰부를 함유한다. 유사하게, 유전자 조작 돌출부는 더 작은 측쇄를 함유하는 아미노산을 더 큰 측쇄를 함유하는 아미노산으로 대체함으로써 구성될 수 있다. 구체적으로, (상기에 추가로 기술된) 일부 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이종이량체화 선택성 모듈)은 CH_3 항체 불변 도메인에 T366W 돌연변이와 같은 유전자 조작 돌출부를 함유한다. 본 개시 내용에서, 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부는 또한 이종이량체 형성을 강화하기 위해 CH_3 도메인 간의 이황화 결합 유전자 조작과 결합된다. 일 실시예에서, 유전자 조작 함몰부 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부 S354C 및 T366W를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체와 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, Y349C가 첨가된 유전자 조작 함몰부를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 S354C가 첨가된 유전자 조작 돌출부를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 다른 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부, 이황화 결합 유전자 조작 또는 구조 계산(혼합 HA-TF)과 함께 표 3에 제한 없이 포함된다.

표 3

[0219]

Fc 이종이량체화 방법(노브-인투-홀)			
방법	**돌연변이 (사슬 A)** (Fc 도메인 단량체 1의 CH3 도메인)	**돌연변이 (사슬 B)** (Fc 도메인 단량체 2의 CH_3 도메인)	**참조 문헌**
노브-인투-홀 (Y-T)	Y407T	T336Y	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	Y407A	T336W	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	F405A	T394W	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	Y407T	T366Y	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	T394S	F405W	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	T394W, Y407T	T366Y, F406A	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	T394S, Y407A	T366W, F405W	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	T366W, T394S	F405W, T407A	미국 특허 # 8,216,805
노브-인투-홀	F405T	T394Y	
노브-인투-홀	S354C, T366W	Y349C, T366S, L368A, Y407V	
노브-홀 (CW-CSAV)	Y349C, T366S, L368A, Y407V	S354C, T366W	Merchant 등의 *Nat. Biotechnol.* 16(7):677-81, 1998
HA-TF	S364H, F405A	Y349T, T394F	WO2011028952

[0220] *참고: 모든 잔기는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링됨(Edelm 등의 문헌[Proc Natl Acad Sci USA, 63:78-85, 1969])*

[0221] 상이한 아미노산 잔기를 갖는 CH_3 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산 잔기를 대체하는 것은 원래의 아미노산 잔기를 암호화하는 핵산을 변경함으로써 달성될 수 있다. 대체될 수 있는 원래의 아미노산 잔기 수의 상한은 계면에서의 충분한 상호작용이 여전히 유지되는 한, CH_3 항체 불변 도메인의 계면에서 있는 총 잔기의 수이다.

[0222] *유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부와 정전기 스티어링의 조합*

[0223] 전기 스티어링을 노브-홀 기술과 조합하여, 예를 들어, 2개의 상이한 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 유리하게 할 수 있다. 이후에 보다 자세히 설명되는 정전기 스티어링은 보다 고차 단백질 분자의 형성을 조절하기 위해 펩티드, 단백질 도메인 및 단백질의 반대로 하전된 아미노산 사이의 유리한 정전기 상호작용을 이용하는 것이다. 전기 스티어링을 사용하여 동종이량체화 또는 이종이량체화를 촉진할 수 있으며, 후자

는 노브-홀 기술과 유용하게 조합될 수 있다. 이종이량체화의 경우, 상이하지만 양립성인 돌연변이는 이종이량체화되는 각각의 Fc 도메인 단량체에 도입된다. 따라서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양하전 및 음하전 아미노산 치환 중 하나를 포함하도록 변형될 수 있다: D356K, D356R, E357K, E357R, K370D, K370E, K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 예를 들어, 하나의 Fc 도메인 단량체, 예를 들어, 함몰부(Y349C, T366S, L368A 및 Y407V)를 갖는 Fc 도메인 단량체는 K370D 돌연변이를 또한 포함하며, 다른 Fc 도메인 단량체, 예를 들어, 돌출부(S354C 및 T366W)를 갖는 Fc 도메인 단량체는 E357K를 포함할 수 있다.

[0224] 보다 일반적으로, 다음 함몰부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): Y407T, Y407A, F405A, Y407T, T394S, T394W:Y407A, T366W:T394S, T366S:L368A:Y407V:Y349C 및 S3364H:F405 중 어느 하나는 표 4의 돌연변이와 조합될 수 있고, 다음 돌출부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): T366Y, T366W, T394W, F405W, T366Y:F405A, T366W:Y407A, T366W:S354C 및 Y349T:T394F 중 어느 하나는 표 4의 돌연변이와 조합될 수 있으며, 이는 함몰부 돌연변이(또는 돌연변이 조합)와 함께 사용되는 표 4 돌연변이의 돌연변이와 페어링된다.

[0225] 보다 일반적으로, 다음 함몰부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): Y407T, Y407A, F405A, Y407T, T394S, T394W:Y407A, T366W:T394S, T366S:L368A:Y407V:Y349C 및 S3364H:F405 중 어느 하나는 표 3의 정전기 스티어링 돌연변이와 조합될 수 있고, 임의의 돌출부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): T366Y, T366W, T394W, F405W, T366Y:F405A, T366W:Y407A, T366W:S354C, 및 Y349T:T394F 중 어느 하나는 표 3의 정전기 스티어링 돌연변이와 조합될 수 있다.

[0226] **VI. 정전기 스티어링**

[0227] 정전기 스티어링은 보다 고차 단백질 분자의 형성을 조절하기 위해 펩티드, 단백질 도메인 및 단백질의 반대로 하전된 아미노산 사이의 유리한 정전기 상호작용을 이용하는 것이다. 이중-특이적 항체의 생성에서 이종이량체 형성을 위하여 동종이량체의 형성을 감소시키는 항체 도메인의 상호작용을 변경하는 정전기 스티어링 효과를 이용하는 방법은 미국 특허 출원 공개 제2014-0024111호에 개시되어 있다.

[0228] 본 개시 내용에서, 정전기 스티어링은 Fc 도메인 단량체의 이량체화 및 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 형성을 제어하는 데 사용된다. 특히, 정전기 스티어링을 사용하는 Fc 도메인 단량체의 이량체화를 제어하기 위하여, CH_3-CH_3 계면을 구성하는 하나 이상의 아미노산 잔기는 양하전 또는 음하전 아미노산 잔기로 대체되어 도입된 특정 하전 아미노산에 따라 상호작용은 정전기적으로 유리하거나 불리하게 된다. 일부 구현예에서, 계면의 양하전 아미노산, 예를 들어 라이신, 아르기닌 또는 히스티딘은 음하전 아미노산, 예를 들어 아스파르트산 또는 글루탐산으로 대체된다. 다른 구현예에서, 계면의 음하전 아미노산은 양하전 아미노산으로 대체된다. 하전 아미노산은 상호작용하는 CH_3 항체 불변 도메인 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있다. 하전 아미노산을 상호작용하는 CH_3 항체 불변 도메인에 도입함으로써, 하전 아미노산 사이의 상호작용으로 인한 정전기 스티어링 효과에 의해 제어되는 Fc 도메인 단량체의 이량체를 선택적으로 형성할 수 있는 (상기에서 추가로 기재되는) 이량체화 선택성 모듈이 생성된다.

[0229] 일부 구현예에서, 정전기 스티어링 효과에 의해 제어되어 Fc 도메인 단량체의 이량체를 선택적으로 형성할 수 있는 역전하를 포함하는 이량체화 선택성 모듈을 생성하기 위해, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이종이량체화 또는 동종이량체화를 통해 선택적으로 형성될 수 있다.

[0230] *Fc 도메인 단량체의 이종이량체화*

[0231] Fc 도메인 단량체의 이종이량체화는 표 4에 제한 없이 포함된 전하 잔기 쌍과 같은 2개의 Fc 도메인 단량체에 상이하지만 양립성인 돌연변이를 도입함으로써 촉진될 수 있다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양하전 및 음하전 아미노산 치환 중 하나 이상을 포함할 수 있다: D356K, D356R, E357K, E357R, K370D, K370E, K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E, 예를 들어, 1, 2, 3, 4 또는 5개 또는 그 이상의 D356K, D356R, E357K, E357R, K370D, K370E, K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 일 실시예에서, 양하전 아미노산 치환, 예를 들어, D356K 또는 E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 음하전 아미노산 치환, 예를 들어, K370D 또는 K370E를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K370D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E356K 및 D399K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K392D 및 K409D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다.

[0232] "이종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 이종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이들 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 형성을 촉진하는 상이한 역전하 돌연변이(이종이량체화 선택성 모듈)(예를 들어, 표 4의 돌연변이 참조)를 함유한다. 일 실시예에서, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 3개의 Fc 도메인 중 2개는 정전기 스티어링 효과에 의해 촉진되어 2개의 Fc 도메인 단량체의 이종이량체화에 의해 형성될 수 있다.

표 4

[0233]

Fc 이종이량체화 방법 (정전기 스티어링)			
방법	**돌연변이 (사슬 A)** (Fc 도메인 단량체 1의 CH3 도메인)	**돌연변이 (사슬 B)** (Fc 도메인 단량체 2의 CH_3 도메인)	**참조 문헌**
정전기 스티어링	K409D	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409D	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409E	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409E	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392D	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392D	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392E	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392E	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링 (DD-KK)	K392D, K409D	E356K, D399K	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010
정전기 스티어링	K370E, K409D, K439E	E356K, E357K, D399K	WO 2006/106905
노브-인투-홀 + 정전기 스티어링	S354C, E357K, T366W	Y349C, T366S, L368A, K370D, Y407V	WO 2015/168643
정전기 스티어링	K370D	E357K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370D	E357R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370E	E357K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370E	E357R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370D	D356K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370D	D356R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370E	D356K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370E	D356R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K370E, K409D, K439E	E356K, E357K, D399K	US 2014/0024111

[0234] *참고: 모든 잔기는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링됨(Edelm 등의 문헌[Proc Natl Acad Sci USA, 63:78-85, 1969])*

[0235] *Fc 도메인 단량체의 동종이량체화*

[0236] Fc 도메인 단량체의 동종이량체화는 동일한 정전기 스티어링 돌연변이(동종이량체화 선택성 모듈)를 Fc 도메인 단량체 둘 모두에 대칭 방식으로 도입함으로써 촉진될 수 있다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 CH_3 도메인 사이의 계면에서 하전된 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치에 동일한 역전하 돌연변이를 함유하는 동종이량체화 선택성 모듈을 포함한다. 2개의 Fc 도메인 단량체에서 2개 이상의 상보적인 잔기 쌍의 두 구성원의 전하를 역전시킴으로써, 돌연변이된 Fc 도메인 단량체는 동일한 돌연변이된 서열의 Fc 도메인 단량체에 대한 상보성을 유지하지만, 이러한 돌연변이가 없는 Fc 도메인 단량체에 대해 더 낮은 상보성을 갖는다. Fc 도메인 단량체 내에 도입되어 이의 동종이량체화를 촉진할 수 있는 정전기 스티어링 돌연변이는 표 5 및 6에 제한 없이 나타나 있다. 일 구현예에서, Fc 도메인은 이중 역전하 돌연변이(표 5), 예를 들어, K409D/D399K를 각각 포함하는 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 또 다른 구현예에서, Fc 도메인은 사중 역전하 돌연변이(표 6), 예를 들어, K409D/D399K/K370D/E357K를 각각 포함하는 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다.

[0237] 예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 3개의 Fc 도메인 중 1개는 정전기 스티어링 효과에 의해 촉진되어 2개의 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화에 의해 형성될 수 있다. "동종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체

는 동일한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 5 및 표 6의 돌연변이 참조)를 함유한다. 3개의 Fc 도메인(하나의 카복실 말단 "줄기" Fc 도메인 및 2개의 아미노 말단 "분지" Fc 도메인)을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 카복시 말단 "줄기" Fc 도메인은 동종이량체 Fc 도메인(또한 "줄기 동종이량체 Fc 도메인"으로도 불림)일 수 있다. 줄기 동종이량체 Fc 도메인은 이중 돌연변이 K409D/D399K를 각각 함유하는 2개의 Fc 도메인 단량체에 의해 형성될 수 있다.

표 5

[0238]

Fc 동종이량체화 방법		
방법	**돌연변이(사슬 A 및 사슬 B)** (Fc 도메인 단량체 1 및 2의 CH3 도메인)	**참조 문헌**
야생형	없음	
정전기 스티어링 (KD)	D399K, K409D	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D399K, K409E	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	E357K, K370D	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	E357K, K370E	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D356K, K439D	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D356K, K439E	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	K392D, D399K	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	K392E, D399K	Gunasekaran 등의 *J Biol Chem.* 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D399R, K409D	
정전기 스티어링	D399R, K409E	
정전기 스티어링	D399R, K392D	
정전기 스티어링	D399R, K392E	
정전기 스티어링	E357K, K370D	
정전기 스티어링	E357R, K370D	
정전기 스티어링	E357K, K370E	
정전기 스티어링	E357R, K370E	
정전기 스티어링	D356K, K370D	
정전기 스티어링	D356R, K370D	
정전기 스티어링	D356K, K370E	
정전기 스티어링	D356R, K370E	

[0239] *참고: 모든 잔기는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링됨(Edelm 등의 문헌[Proc Natl Acad Sci USA, 63:78-85, 1969])*

표 6

[0240]

Fc 동종이량체화 돌연변이 - 4개의 역전하	
동종이량체 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체 각각의 C_H3 불변 도메인의 역전하 돌연변이	**동종이량체 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체 각각의 C_H3 도메인의 역전하 돌연변이**
K409D/D399K/K370D/E357K	K392D/D399K/K370D/E357K
K409D/D399K/K370D/E357R	K392D/D399K/K370D/E357R
K409D/D399K/K370E/E357K	K392D/D399K/K370E/E357K

K409D/D399K/K370E/E357R	K392D/D399K/K370E/E357R
K409D/D399K/K370D/D356K	K392D/D399K/K370D/D356K
K409D/D399K/K370D/D356R	K392D/D399K/K370D/D356R
K409D/D399K/K370E/D356K	K392D/D399K/K370E/D356K
K409D/D399K/K370E/D356R	K392D/D399K/K370E/D356R
K409D/D399R/K370D/E357K	K392D/D399R/K370D/E357K
K409D/D399R/K370D/E357R	K392D/D399R/K370D/E357R
K409D/D399R/K370E/E357K	K392D/D399R/K370E/E357K
K409D/D399R/K370E/E357R	K392D/D399R/K370E/E357R
K409D/D399R/K370D/D356K	K392D/D399R/K370D/D356K
K409D/D399R/K370D/D356R	K392D/D399R/K370D/D356R
K409D/D399R/K370E/D356K	K392D/D399R/K370E/D356K
K409D/D399R/K370E/D356R	K392D/D399R/K370E/D356R
K409E/D399K/K370D/E357K	K392E/D399K/K370D/E357K
K409E/D399K/K370D/E357R	K392E/D399K/K370D/E357R
K409E/D399K/K370E/E357K	K392E/D399K/K370E/E357K
K409E/D399K/K370E/E357R	K392E/D399K/K370E/E357R
K409E/D399K/K370D/D356K	K392E/D399K/K370D/D356K
K409E/D399K/K370D/D356R	K392E/D399K/K370D/D356R
K409E/D399K/K370E/D356K	K392E/D399K/K370E/D356K
K409E/D399K/K370E/D356R	K392E/D399K/K370E/D356R
K409E/D399R/K370D/E357K	K392E/D399R/K370D/E357K
K409E/D399R/K370D/E357R	K392E/D399R/K370D/E357R
K409E/D399R/K370E/E357K	K392E/D399R/K370E/E357K
K409E/D399R/K370E/E357R	K392E/D399R/K370E/E357R
K409E/D399R/K370D/D356K	K392E/D399R/K370D/D356K
K409E/D399R/K370D/D356R	K392E/D399R/K370D/D356R
K409E/D399R/K370E/D356K	K392E/D399R/K370E/D356K
K409E/D399R/K370E/D356R	K392E/D399R/K370E/D356R

[0241] *참고: 모든 잔기는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링됨(Edelm 등의 문헌[Proc Natl Acad Sci USA, 63:78-85, 1969])*

[0242] *다른 이종이량체화 방법*

[0243] 다수의 다른 이종이량체화 기술이 기재되어 있다. 임의의 하나 이상의 이러한 기술(표 7)은 본원에 기재된 임의의 노브-홀 및/또는 정전기 스티어링 이종이량체화 및/또는 동종이량체화 기술과 조합되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 제조할 수 있다.

표 7

[0244]

다른 Fc 이종이량체화 방법			
방법	**돌연변이 (사슬 A)**	**돌연변이 (사슬 B)**	**참조 문헌**
ZW1 (VYAV-VLLW)	T350V, L351Y, F405A, Y407V	T350V, T366L, K392L, T394W	Von Kreudenstein 등의 MAbs, 5:646-54, 2013
IgG1 힌지/CH3 전하쌍 (EEE-RRR)	D221E, P228E, L368E	D221R, P228R, K409R	Strop 등의 J Mol Biol, 420:204-19, 2012
EW-RVT	K360E, K409W	Q347R, D399V, F405T	Choi 등의 Mol Cancer Ther, 12:2748-59, 2013
EW-RVT$_{S-S}$	K360E, K409W, Y349C	Q347R, D399V, F405T, S354C	Choi 등의 Mol Immunol, 65:377-83, 2015
전하 도입 (DK Biclonic)	L351D	T366K	De Nardis, J Biol Chem, 292:14706-17, 2017

전하 도입 (DEKK Biclonic)	L351D, L368E	L351K, T366K	De Nardis, J Biol Chem, 292:14706-17, 2017
DuoBody (L-R)	F405L	K409R	Labrijn 등의 Proc Natl Acad Sci USA, 110:5145-50, 2013
SEEDbody	IgG/A 키메라	IgG/A 키메라	Davis 등의 Protein Eng Des Sel, 23:195-202, 2010
BEAT (A/B)	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro 등의 J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
BEAT (A/B min)	S364K, T366V, K370T, K392Y, K409W, T411N	F405A, Y407S	Skegro 등의 J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
BEAT (A/B + Q)	Q347A, S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro 등의 J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
BEAT (A/B - T)	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R	Skegro 등의 J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
7.8.60 (DMA-RRVV)	K360D, D399M, Y407A	E345R, Q347R, T366V, K409V	Leaver-Fay 등의 Structure, 24:641-51, 2016
20.8.34 (SYMV-GDQA)	Y349S, K370Y, T366M, K409V	E356G, E357D, S364Q, Y407A	Leaver-Fay 등의 Structure, 24:641-51, 2016

[0245] *참고: 모든 잔기는 EU 넘버링 체계에 따라 넘버링됨(Edelm 등의 문헌[Proc Natl Acad Sci USA, 63:78-85, 1969])*

[0246] **VII. 링커**

[0247] 본 개시 내용에서, 링커는 폴리펩티드 또는 단백질 도메인 및/또는 결합된 비단백질 모이어티 사이의 결합 또는 연결을 기술하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 링커는 적어도 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 결합 또는 연결이고, 링커는 제1 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인의 C-말단을 제2 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단에 연결하여, 2개의 Fc 도메인 단량체가 직렬 연결로 서로 연결된다. 다른 구현예에서, 링커는 Fc 도메인 단량체와 이에 부착되는 임의의 다른 단백질 도메인 사이의 결합이다. 예를 들어, 링커는 Fc 도메인 단량체의 CH_3 항체 불변 도메인의 C-말단을 알부민-결합 펩티드의 N-말단에 부착시킬 수 있다.

[0248] 링커는 펩티드 결합과 같은 단순 공유 결합, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 중합체와 같은 합성 중합체이거나, 화학적 접합과 같이 화학 반응으로 생성된 임의의 종류의 결합일 수 있다. 링커가 펩티드 결합인 경우, 하나의 단백질 도메인의 C-말단의 카복실산 기는 펩티드 결합을 형성하는 축합 반응에서 또 다른 단백질 도메인의 N-말단에서 아미노 기와 반응할 수 있다. 구체적으로, 펩티드 결합은 당업계에 잘 알려진 통상의 유기 화학 반응을 통한 합성 수단으로 형성될 수 있거나, 숙주 세포에서의 천연 생성에 의해 형성될 수 있으며, 두 단백질 모두의 DNA 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열, 예컨대, 직렬 연결의 2개의 Fc 도메인 단량체는 필수 분자 기구, 예컨대, 숙주 세포의 DNA 중합효소 및 리보솜에 의해 두 단백질 모두를 암호화하는 인접 폴리펩티드로 직접 전사 및 번역될 수 있다.

[0249] 링커가 합성 중합체, 예컨대 PEG 중합체인 경우, 중합체는 각 말단에서 반응성 화학 작용기로 작용화되어, 두 단백질의 연결 말단에서 말단 아미노산과 반응할 수 있다.

[0250] (상술한 펩티드 결합을 제외하고) 링커가 화학 반응으로 만들어지는 경우, 화학 작용기, 예컨대 아민, 카복실산, 에스테르, 아지드, 또는 당업계에서 통상 사용되는 기타 작용기는 하나의 단백질의 C-말단 및 또 다른 단백질의 N-말단에 각각 합성되어 부착될 수 있다. 이어서, 두 작용기는 화학 결합을 형성하는 합성 화학 수단을 통해 반응하여, 2개의 단백질을 함께 연결할 수 있다. 이러한 화학적 접합 절차는 당업자에게 통상적인 것이다.

[0251] *스페이서*

[0252] 본 개시 내용에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200개, 3~180개, 3~160개, 3~140개, 3~120개, 3~100개, 3~90개, 3~80개, 3~70개, 3~60개, 3~50개, 3~45개, 3~40개, 3~35개, 3~30개, 3~25개, 3~20개, 3~15개, 3~10개, 3~9개, 3~8개, 3~7개, 3~6개, 3~5개, 3~4개, 4~200개, 5~200개, 6~200개, 7~200개, 8~200개, 9~200개, 10~200개, 15~200개, 20~200개, 25~200개, 30~200개, 35~200개, 40~200개, 45~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개 또는 180~200개의 아미노산)을 포함하는 아미노산 스페이서일 수 있다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200개, 12~180개, 12~160개, 12~140개, 12~120개, 12~100개, 12~90개, 12~80개, 12~70개, 12~60개, 12~50개, 12~40개, 12~30개, 12~20개, 12~19개, 12~18개, 12~17개, 12~16개, 12~15개, 12~14개, 또는 12~13개의 아미노산) (예컨대, 14~200개, 16~200개, 18~200개, 20~200개, 30~200개, 40~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개, 180~200개 또는 190~200개의 아미노산)을 함유하는 아미노산 스페이서이다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 12~30개의 아미노산(예를 들어, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산)을 함유하는 아미노산 스페이서이다. 적합한 펩티드 스페이서는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 글리신 및 세린과 같은 가요성 아미노산 잔기를 함유하는 펩티드 링커를 포함한다. 특정 구현예에서, 스페이서는 모티프, 예컨대 GS, GGS, GGGGS(서열 번호 1), GGSG(서열 번호 2) 또는 SGGG(서열 번호 3)의 다중 모티프 또는 반복 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GS, 예컨대, GS, GSGS(서열 번호 4), GSGSGS(서열 번호 5), GSGSGSGS(서열 번호 6), GSGSGSGSGS(서열 번호 7), 또는 GSGSGSGSGSGS(서열 번호 8)의 모티프를 포함하는 2 내지 12개의 아미노산을 함유할 수 있다. 특정 다른 구현예에서, 스페이서는 GGS, 예컨대, GGS, GGSGGS(서열 번호 9), GGSGGSGGS(서열 번호 10) 및 GGSGGSGGSGGS(서열 번호 11)의 모티프를 포함하는 3 내지 12개의 아미노산을 함유할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 스페이서는 GGSG(서열번호 2), 예컨대, GGSGGGSG(서열번호 12), GGSGGGSGGGSG(서열번호 13), GGSGGGSGGGSGGGSG(서열번호 14) 또는 GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG(서열번호 15)의 모티프를 포함하는 4 내지 20개의 아미노산을 함유할 수 있다. 다른 구현예에서, 스페이서는 GGGGS(서열번호 1), 예컨대, GGGGSGGGGS(서열번호 16) 또는GGGGSGGGGSGGGGS(서열번호 17)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18)이다.

[0253] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 글리신 잔기만, 예컨대, 적어도 4개의 글리신 잔기(예컨대, 4~200개, 4~180개, 4~160개, 4~140개, 4~40개, 4~100개, 4~90개, 4~80개, 4~70개, 4~60개, 4~50개, 4~40개, 4~30개, 4~20개, 4~19개, 4~18개, 4~17개, 4~16개, 4~15개, 4~14개, 4~13개, 4~12개, 4~11개, 4~10개, 4~9개, 4~8개, 4~7개, 4~6개 또는 4~5개의 글리신 잔기) (예컨대, 4~200개, 6~200개, 8~200개, 10~200개, 12~200개, 14~200개, 16~200개, 18~200개, 20~200개, 30~200개, 40~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개, 180~200개 또는 190~200개의 글리신 잔기)를 함유한다. 특정 구현예에서, 스페이서는 4~30개의 글리신 잔기(예컨대, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 글리신 잔기)를 갖는다. 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 글리코실화되지 않을 수 있거나(예컨대, O-연결 글리코실화(O-linked glycosylation), O-글리코실화라고도 지칭됨), 예컨대 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 글리코실화 수준이 감소(예컨대, O-글리코실화 수준의 감소)(예컨대, 크실로스, 만노스, 시알산, 푸코스(Fuc) 및/또는 갈락토스(Gal)(예컨대, 크실로스)와 같은 글리칸을 갖는 O-글리코실화 수준의 감소)될 수 있다.

[0254] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 O-글리코실화(예컨대, O-자일로실화)되지 않을 수 있거나, 예를 들어 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 O-글리코실화 수준이 감소될 수 있다(예컨대, O-자일로실화 수준의 감소).

[0255] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 단백질 분해를 겪지 않을 수 있거나 예컨대, 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 단백질 분해율이 감소될 수 있다.

[0256] 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGG(서열 번호 19), 예컨대, GGGGGGGG(서열 번호 20), GGGGGGGGGGGG(서열 번호 21), GGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 22), 또는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 23)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGGG(서열번호 24), 예컨대, GGGGGGGGGG(서열번호 25) 또는GGGGGGGGGGGGGGG(서열번호 26)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호

27)이다.

[0257] 다른 구현예에서, 스페이서는 글리신 및 세린 외의 아미노산, 예를 들어 GENLYFQSGG(서열번호 28), SACYCELS(서열번호 29), RSIAT(서열번호 30), RPACKIPNDLKQKVMNH(서열번호 31), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG(서열번호 32), AAANSSIDLISVPVDSR(서열번호 33), 또는 GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS(서열번호 34)를 또한 함유할 수 있다.

[0258] 본 발명의 특정 구현예에서, 12- 또는 20-아미노산 펩티드 스페이서는 2개의 Fc 도메인 단량체를 직렬로 연결하는 데 사용되며, 12- 및 20-아미노산 펩티드 스페이서는 각각 서열 GGGSGGGSGGGS(서열 번호 35) 및 SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열 번호 18)로 이루어진다. 다른 구현예에서, 서열 GGSGGGSGGGSGGGSGGS(서열번호 36)로 이루어진 18-아미노산 펩티드 스페이서가 사용될 수 있다.

[0259] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 1~36 중 어느 하나의 서열에 적어도 75% 동일한(적어도 77%, 79%, 81%, 83%, 85%, 87%, 89%, 91%, 93%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 17, 18, 26 및 27 중 어느 하나의 서열에 적어도 80% 동일한(적어도 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 18 또는 27 중 어느 하나의 서열에 적어도 80% 동일한(적어도 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0260] 특정 구현예에서, Fc 도메인 단량체의 힌지의 아미노 말단과 동일한 폴리펩티드에 있는 Fc 단량체의 카복시 말단 사이의 링커(즉, 제1 Fc 도메인 단량체의 CH3 항체 불변 도메인의 C-말단을 제2 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단에 연결하여, 2개의 Fc 도메인 단량체가 서로 직렬이 되도록 연결하는 링커)는 공유 결합이 아닌 3개 이상의 아미노산(예를 들어, 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200, 3~180, 3~160, 3~140, 3~120, 3~100, 3~90, 3~80, 3~70, 3~60, 3~50, 3~45, 3~40, 3~35, 3~30, 3~25, 3~20, 3~15, 3~10, 3~9, 3~8, 3~7, 3~6, 3~5, 3~4, 4~200, 5~200, 6~200, 7~200, 8~200, 9~200, 10~200, 15~200, 20~200, 25~200, 30~200, 35~200, 40~200, 45~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200 또는 180~200개의 아미노산)을 갖는 스페이서, 또는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200, 12~180, 12~160, 12~140, 12~120, 12~100, 12~90, 12~80, 12~70, 12~60, 12~50, 12~40, 12~30, 12~20, 12~19, 12~18, 12~17, 12~16, 12~15, 12~14 또는 12~13개의 아미노산)(예를 들어, 14~200, 16~200, 18~200, 20~200, 30~200, 40~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200, 180~200 또는 190~200개의 아미노산))을 함유하는 아미노산 스페이서이다.

[0261] 스페이서는 또한 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단과 CD38 결합 도메인(예를 들어, CD38 중쇄 결합 도메인의 CH1 도메인 또는 CD38 경쇄 결합 도메인의 CL 도메인)의 카복시 말단 사이에 존재하여 3개 이상의 아미노산(예를 들어, 3~200 아미노산(예를 들어, 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200, 3~180, 3~160, 3~140, 3~120, 3~100, 3~90, 3~80, 3~70, 3~60, 3~50, 3~45, 3~40, 3~35, 3~30, 3~25, 3~20, 3~15, 3~10, 3~9, 3~8, 3~7, 3~6, 3~5, 3~4, 4~200, 5~200, 6~200, 7~200, 8~200, 9~200, 10~200, 15~200, 20~200, 25~200, 30~200, 35~200, 40~200, 45~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200 또는 180~200개의 아미노산)을 갖는 스페이서, 또는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200, 12~180, 12~160, 12~140, 12~120, 12~100, 12~90, 12~80, 12~70, 12~60, 12~50, 12~40, 12~30, 12~20, 12~19, 12~18, 12~17, 12~16, 12~15, 12~14 또는 12~13개의 아미노산)(예를 들어, 14~200, 16~200, 18~200, 20~200, 30~200, 40~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200, 180~200 또는 190~200개의 아미노산))을 함유하는 아미노산 스페이서에 의해 도메인은 연결할 수 있다.

[0262] **VII. 혈청 단백질-결합 펩티드**

[0263] 혈청 단백질 펩티드에 대한 결합은 단백질 의약품의 약동학을 개선할 수 있으며, 특히 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 혈청 단백질-결합 펩티드와 융합될 수 있다.

[0264] 일례로, 본원에 기재된 방법 및 조성물에서 사용될 수 있는 알부민-결합 펩티드는 당업계에 일반적으로 알려져 있다. 일 구현예에서, 알부민 결합 펩티드는 서열 DICLPRWGCLW(서열번호 37)을 포함한다. 일부 구현예에서, 알부민 결합 펩티드는 서열번호 37의 서열과 적어도 80% 동일한(예를 들어, 80%, 90% 또는 100% 동일한) 서열을 갖는다.

[0265] 본 개시에서, 알부민-결합 펩티드는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 있는 특정 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 부착될 수 있다. 일 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc 작제물에 있는 하나 이상의 폴리펩티드의 C-말단에 부착될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 항원 결합 도메인을 함유하는 Fc 작제물에 있는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 암호화하는 폴리펩티드의 C-말단에 융합될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 암호화하는 폴리펩티드 내의 제2 Fc 도메인 단량체에 연결되는 Fc 도메인 단량체의 C-말단(예컨대, 도 1의 Fc 도메인 단량체 114 및 116과 도 2의 Fc 도메인 단량체 214 및 216)에 부착될 수 있다. 알부민-결합 펩티드는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 유전적으로 융합될 수 있거나, 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 화학적 수단, 예컨대, 화학적 접합을 통해 부착될 수 있다. 원하는 경우, 스페이서는 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 알부민-결합 펩티드 사이에 삽입될 수 있다. 이론에 구속되지 않고, 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 알부민-결합 펩티드를 포함시키면 혈청 알부민에 대한 이의 결합을 통해 치료 단백질을 장기간 유지할 수 있을 것으로 예상된다.

[0266] **VIII. Fc-항원 결합 도메인 작제물**

[0267] 일반적으로, 본 발명은 2~10개의 Fc 도메인 및 하나 이상의 부착된 항원 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다. 이들은 Fc 수용체, 예컨대, FcγRIIIa에 대한 단일 야생형 Fc 도메인보다 더 큰 결합 친화도 및/또는 결합성을 가질 수 있다. 본 개시 내용은 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체가 서로 선택적으로 이량체를 형성하여, 원치 않는 다량체 또는 응집의 형성을 방지하도록 2개의 상호작용하는 C_H3 항체 불변 도메인의 계면에서 아미노산을 유전자 조작하는 방법을 개시한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 짝수의 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 각각의 Fc 도메인 단량체 쌍은 Fc 도메인을 형성한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체의 이량체 및 1개의 항원 결합 도메인으로 형성된 최소 2개의 작용성 Fc 도메인을 포함한다. 항원 결합 도메인은, 예를 들어, 링커, 스페이서, 펩티드 결합, 화학 결합 또는 화학 모이어티를 사용하여 Fc 도메인에 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명은 Fc 도메인의 두 Fc 도메인 단량체의 제1 쌍은 서로 선택적으로 이량체를 형성하고, Fc 도메인의 두 Fc 도메인 단량체의 제2 쌍은 서로 선택적으로 이량체를 형성하여 원치 않는 다량체 또는 응집의 형성을 방지하도록 2개의 상호작용하는 CH3 항체 불변 도메인의 제1 쌍의 계면에서 표 3 및 표 4로부터 선택된 하나의 세트의 아미노산 치환을 유전자 조작하고 제1 세트의 아미노산 치환과 상이하며, 표 3 및 표 4로부터 선택된 제2 세트의 아미노산 치환을 2개의 상호작용하는 CH3 항체 불변 도메인의 제2 쌍의 계면에서 유전자 조작하는 방법에 관한 것이다.

[0268] Fc-항원 결합 도메인 작제물은 다양한 방식으로 조립될 수 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 비대칭 직렬 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 N-말단 Fc 도메인에 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 C-말단 Fc 도메인에 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 N-말단 또는 C-말단 Fc 도메인에 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 상이한 항원 결합 도메인 서열을 갖는 장쇄 및 단쇄를 사용하여 이중 특이적 작제물을 형성하도록 조립될 수 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 상이한 세트의 이종이량체화 돌연변이 및 상이한 항원 결합 도메인을 갖는 사슬을 사용하여 이중 특이적 및 삼중 특이적 작제물을 형성하도록 조립될 수 있다. 이중 특이적 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 2개의 상이한 항원 결합 도메인을 포함한다. 삼중 특이적 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 상이한 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0269] 항원 결합 도메인은 다양한 방식으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있다. 항원 결합 도메인은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있다. 항원의 중쇄 성분은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있고, 경쇄 성분은 별도의 폴리펩티드로 발현될 수 있다(도 16a). 일부 구현예에서, scFv는 항원 결합 도메인으로 사용된다. scFv는 긴 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있다(도 16b). 일부 구현예에서, 중쇄 및 경쇄 성분은 개별적으로 발현되고 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 외적으로 첨가된다. 일부 구현예에서, 항원 결합 도메인은 개별적으로 발현되어, 나중에 화학 결합으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결된다(도 16c).

[0270] 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 하나 이상의 Fc 폴리펩티드는 C-말단에는 라이신 잔기가 결여되어 있다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 모든 Fc 폴리펩티드에는 C-말단 라이신 잔기가 결여되어 있다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 하나 이상의 Fc 폴리펩티드에서 C-말단 라이신의 부재는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예컨대, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)의 집단, 예컨대, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 균질인 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단의 균질성을 개선할 수 있다.

[0271] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이된다.

[0272] 본원의 실시예에 기재된 예시적인 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 경우, Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~28은 노브 및 홀 서브유닛에 각각 E357K 및 K370D 전하 쌍을 함유할 수 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 29~42는 E357K 및 K370D 쌍을 함유할 수 있는 직교 정전기 스티어링 돌연변이를 사용할 수 있으며, 또한 추가 스티어링 돌연변이를 포함할 수 있다. 직교 노브 및 홀을 갖는 Fc-항원 결합 작제물 29~42의 경우, 정전기 스티어링 돌연변이가 하나를 제외한 모든 직교 쌍에 필요하며, 모든 직교 쌍에 포함될 수 있다.

[0273] 일부 구현예에서, 2개의 직교 노브 및 홀이 필요한 경우, 노브1에 대한 정전기 스티어링 변형은 E357K이고 홀1에 대한 정전기 스티어링 변형은 K370D일 수 있으며, 노브2에 대한 정전기 스티어링 변형은 K370D이고, 홀2에 대한 정전기 스티어링 변형은 E357K일 수 있다. 제3 직교 노브 및 홀이 필요한 경우(예를 들어, 삼중 특이적 항체의 경우), 정전기 스티어링 변형 E357K 및 D399K가 노브3에 대해 첨가될 수 있고, 정전기 스티어링 변형 K370D 및 K409D가 홀3에 대해 첨가될 수 있거나, 또는 정전기 스티어링 변형 K370D 및 K409D가 노브3에 대해 첨가될 수 있고, 정전기 스티어링 변형 E357K 및 D399K가 홀3에 대해 첨가될 수 있다.

[0274] 본원에 기재된 예시적인 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예를 들어 Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~42) 중 어느 하나는 단일 Fc 도메인 및 항원 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 가질 수 있고, 단일 Fc 도메인 및 항원 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함할 수 있다.

[0275] **IX. 숙주 세포 및 단백질 생산**

[0276] 본 개시 내용에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 폴리펩티드 및 작제물을 이의 상응하는 핵산으로부터 발현하는 데 필요한 필수 세포 성분, 예컨대, 세포 기관을 포함하는 비히클을 지칭한다. 핵산은 당업계에 공지된 종래 기술(형질전환, 형질감염, 전기 천공법, 인산칼슘 침전, 직접 미세현미주입 등)에 의해 숙주 세포에 도입될 수 있는 핵산 벡터에 포함된다. 숙주 세포는 포유류, 세균, 진균 또는 곤충 기원 중 하나일 수 있다. 포유류 숙주 세포는 CHO(또는 CHO-유래 세포주, 예컨대, CHO-K1, CHO-DXB11 CHO-DG44), 쥐 숙주 세포(예컨대, NSO, Sp2/0), VERY, HEK (예컨대, HEK293), BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, CRL7O3O 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 단백질 작제물의 발현을 조절하거나, 원하는 특정 방식으로 단백질 산물을 변형하고 처리하는 숙주 세포가 또한 선택될 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 산물의 번역 후 처리 및 변형을 위한 특징과 특정 메커니즘을 갖는다. 발현된 단백질의 올바른 변형 및 처리를 보장하기 위해 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다.

[0277] 상응하는 DNA 플라스미드 작제물에서 단백질 산물의 발현 및 분비를 위해, 숙주 세포는 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 및 선별 마커를 포함하여, 당업계에 알려진 적절한 발현 조절 요소에 의해 조절된 DNA로 형질 감염되거나 형질 전환될 수 있다. 치료 단백질의 발현 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.)의 문헌[*Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 2nd ed. 2004 edition (July 20, 2004)]; Vladimir Voynov 및 Justin A. Caravella (eds.)의 문헌[*Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 2nd ed. 2012 edition (June 28, 2012]을 참조한다.

[0278] 일부 구현예에서, 예를 들어, 세포 배양 상청액 내의 Fc 작제물로 조립되는 폴리펩티드를 암호화하는 DNA 플라스미드 작제물로 형질 감염된 숙주 세포에 의해 생성되는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50%는 구조적으로 동일하며(몰 기준), 예를 들어, Fc 작제물의 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% 또는 100%는 구조적으로 동일하다.

[0279] **X. 탈푸코실화(afucosylation)**

[0280] 각 Fc 단량체는 Asn 297에 N-글리코실화 부위를 포함한다. 글리칸은 주어진 Fc 단량체에서 다수의 상이한 형태로 존재할 수 있다. 본원에 기재된 항원-결합 Fc 작제물 또는 항체 함유 조성물에서, 글리칸은 꽤 이종성일 수 있으며, 존재하는 글리칸의 성질은, 무엇보다도, 항체 또는 항원-결합 Fc 작제물을 생산하기 위해 사용되는 세포 유형, 세포의 성장 조건(성장 배지 포함) 및 생산 후 정제에 따라 달라질 수 있다. 다양한 경우에, 본원에 기재된 작제물을 함유하는 조성물은 적어도 어느 정도까지는 탈푸코실화된다. 예를 들어, 조성물에 존재하는 글리칸(예를 들어, Fc 글리칸)의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%에는 푸코스 잔기가 결여되어 있다. 따라서, 5%~60%, 5%~50%, 5%~40%, 10%~50%, 10%~50%, 10%~40%, 20%~50% 또는 20%~40%의 글리칸에는 푸코스 잔기가 결여되어 있다. 적어도 어느 정도 탈푸코실화된 조성물은

1,3,4-Tri-O-아세틸-2-데옥시-2-플루오로-L-푸코스 억제제의 존재 하에 항체를 생산하는 세포를 배양하여 생산될 수 있다. 본원에 기재된 작제물 및 폴리펩티드의 상대적으로 탈푸코실화된 형태는 FUT8의 발현이 감소되거나 없는 세포에서의 발현 및 베타-1,4-만노실-당단백질 4-베타-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제(GnT-III)를 과발현하는 세포에서의 발현을 포함하는 다양한 다른 방법을 사용하여 생산될 수 있다.

[0281] **XI. 정제**

[0282] Fc-항원 결합 도메인 작제물은, 예를 들어, 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환, 친화(예컨대, 단백질 A 친화) 및 크기-배제 컬럼 크로마토그래피), 원심 분리, 용해도 차이 또는 단백질 정제를 위한 임의의 기타 표준 기술 등 단백질 정제 분야에 공지된 임의의 방법으로 정제될 수 있다. 예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 크로마토그래피 컬럼, 여과, 한외여과, 염석 및 투석 절차(예컨대, *문헌[Process Scale Purification of Antibodies*, Uwe Gottschalk (ed.) John Wiley & Sons, Inc., 2009]; 및 문헌[Subramanian (ed.) *Antibodies-Volume I-Production and Purification*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2004)] 참조)로 단백질 A 컬럼과 같은 친화 컬럼을 적절하게 선택하고 결합함으로써 단리되고 정제될 수 있다.

[0283] 일부 경우에, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 예컨대, 전체 세포 용해 혼합물로부터의 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 정제 및 단리를 용이하게 하기 위해 하나 이상의 정제 펩티드에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드는 정제 펩티드에 특이적 친화도를 갖는 다른 모이어티에 결합한다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드에 특이적으로 결합하는 이러한 모이어티는 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드와 같은 고형 지지체에 부착된다. Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있는 정제 펩티드의 예는 이에 제한되지 않지만, 헥사-히스티딘 펩티드, FLAG 펩티드, myc 펩티드 및 혈구응집소(hemagglutinin, HA) 펩티드를 포함한다. 헥사-히스티딘 펩티드(HHHHHH(서열번호 38))는 마이크로몰 친화력으로 니켈-작용화된 아가로스 친화 컬럼에 결합한다. 일부 구현예에서, FLAG 펩티드는 서열 DYKDDDDK(서열번호 39)를 포함한다. 일부 구현예에서, FLAG 펩티드는 직렬로 서열 DYKDDDDK의 정수 배수, 예컨대, 3xDYKDDDDK를 포함한다. 일부 구현예에서, myc 펩티드는 서열 EQKLISEEDL(서열번호 40)을 포함한다. 일부 구현예에서, myc 펩티드는 직렬로 서열 EQKLISEEDL의 정수 배수, 예컨대, 3xEQKLISEEDL을 포함한다. 일부 구현예에서, HA 펩티드는 서열 YPYDVPDYA(서열번호 41)를 포함한다. 일부 구현예에서, HA 펩티드는 직렬로 서열 YPYDVPDYA의 정수 배수, 예컨대, 3xYPYDVPDYA를 포함한다. FLAG, myc, 또는 HA 정제 펩티드를 특이적으로 인식하여 이에 결합하는 항체는 당업계에 잘 알려져 있으며, 종종 시판된다. 이들 항체와 작용화된 고형 지지체(예컨대, 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드)는 FLAG, myc 또는 HA 펩티드를 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 데 사용될 수 있다.

[0284] Fc-항원 결합 도메인 작제물의 경우, 단백질 A 컬럼 크로마토그래피가 정제 과정으로 이용될 수 있다. 단백질 A 리간드는 Fc 영역을 통해 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 상호작용하여, 단백질 A 크로마토그래피를 숙주 세포 단백질의 대부분을 제거할 수 있는 고도의 선별 포획 과정으로 만든다. 본 개시에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 실시예 4 내지 8에 기재된 단백질 A 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있다.

[0285] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 이종이량체화 및/또는 동종이량체화 도메인의 사용은 60% 이상의 순도로 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 제조할 수 있는데, 달리 말하면, 세포에서 생산되는 단백질 작제물 재료의 60% 이상이 원하는 Fc 작제물 구조로, 예를 들어, 제조에서 단백질 작제물 재료의 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%가 원하는 Fc 작제물 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조에서 단백질 작제물 재료의 30% 미만은 원치 않는 Fc 작제물 구조(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 고차종의 작제물)를 가지며, 예를 들어, 제조에서 단백질 작제물 재료의 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하가 원치 않는 Fc 작제물 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 알려진 정제 방법(예를 들어, 단백질 친화성 정제)을 사용한 추가의 정제 후에 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 최종 순도는 80% 이상일 수 있으며, 즉, 정제된 단백질 작제물 재료의 80% 이상이 원하는 Fc 작제물 구조를 가지며, 예를 들어, 제조에서 단백질 작제물 재료의 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%가 원하는 Fc 작제물 구조를 갖는다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 알려진 정제 방법(예를 들어, 단백질 친화성 정제)을 사용한 추가의 정제 후에 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조에서 단백질 작제물 재료의 15% 미만은 원치 않는 Fc 작제물 구조(예를 들어, 실시예 1에 기재된 바와 같은 고차종의 작제물)를 가지며, 예를 들어, 제조에서 단백질 작제물 재료의 15%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 이하가 원치 않는 Fc 작제물 구조를 갖는다.

[0286] **XII. 약학적 조성물/제제**

[0287] 본 개시 내용은 본원에 기재된 하나 이상의 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다. 일 구현예에서, 약학적 조성물은 구조가 동일하거나 실질적으로 동일한 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질

적으로 균질한 집단을 포함한다. 다양한 실시예에서, 약학적 조성물은 Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~42 중 어느 하나의 실질적으로 균질한 집단을 포함한다.

[0288] 본 개시 내용의 치료 단백질 작제물, 예컨대, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예컨대, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)은 약학적 조성물에 혼입될 수 있다. 치료 단백질을 포함하는 약학적 조성물은 당업자에게 공지된 방법으로 제형화될 수 있다. 약학적 조성물은 물 또는 또 다른 약학적으로 허용 가능한 액체에 멸균 용액 또는 현탁액을 포함하는 주사 가능한 제형의 형태로 비경구 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학적 조성물은 주사용 멸균수(WFI), 생리 식염수, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정화제, 희석제, 결합제, 부형제와 같은 약학적으로 허용 가능한 비히클 또는 매질과 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 적합하게 배합한 다음, 일반적으로 허용되는 제약 관행에서 필요한 단위 용량 형태로 혼합함으로써 제형화될 수 있다. 약제(pharmaceutical preparation)에 포함된 유효 성분의 양은 지정된 범위 내에서 제공되는 적합한 용량이다.

[0289] 주사용 멸균 조성물은 비히클로서 주사용 증류수를 사용하여 통상적인 제약 관행에 따라 제형화될 수 있다. 예를 들어, 생리 식염수 또는 글루코스 및 D-소비톨, D-만노스, D-만니톨 및 염화나트륨과 같은 기타 보충제를 함유하는 등장액은 선택적으로 통상 당업계에 공지되어 있는 적합한 안정화제, 예를 들어, 에탄올과 같은 알코올 및 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 다가 알코올, 및 폴리소르베이트 80™, HCO-50과 같은 비이온성 계면활성제 등과 조합하여 주사용 수용액으로 사용될 수 있다. 치료 단백질 산물을 위한 제형화 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예컨대, Banga (ed.)의 문헌[*Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing and Delivery Systems* (2d ed.) Taylor & Francis Group, CRC Press (2006)]을 참조한다.

[0290] **XIII. 치료 방법 및 투여량**

[0291] 본원에 기술된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 다양한 암(예를 들어, 혈액암 및 고형 종양) 및 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0292] 약학적 조성물은 투약 제형과 양립 가능한 방식으로 및 증상을 개선하거나 치료하는 치료 유효량과 같은 양으로 투여된다. 약학적 조성물은 다양한 투약 형태, 예컨대, 정맥내 투약 형태, 피하 투약 형태, 섭취 가능 용액, 약물 방출 캡슐 등과 같은 경구 투약 형태로 투여된다. 개별 대상에 대한 적절한 투여량은 치료 목적, 투여 경로 및 환자의 상태에 따라 다르다. 일반적으로, 재조합 단백질은 1~200 mg/kg, 예컨대, 1~100 mg/kg, 예컨대, 20~100 mg/kg으로 투여된다. 따라서, 최적의 치료 유효량을 얻기 위해 의료 제공자는 필요에 따라 투여량을 조정하고 적정하며 투여 경로를 수정해야 할 것이다.

[0293] **XIV. 보체 의존성 세포독성(CDC)**

[0294] 본 개시 내용에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 다양한 Fc 수용체 매개 효과기 기능을 활성화할 수 있다. 항체와 식세포가 외부 병원체를 제거하는 능력을 강화하는 선천적 면역계의 일부인 보체 의존성 세포독성(CDC) 시스템은 면역계의 구성 요소이다. 다음의 3가지 생화학적 경로가 보체 시스템을 활성화한다: 고전적인 보체 경로, 대체 보체 경로, 및 렉틴 경로(이들 모두는 신호 전달 캐스케이드(signaling cascades) 및 복잡한 활성화의 세트를 수반함).

[0295] 고전적인 보체 경에서, IgG 또는 IgM는 보체 활성화를 유발한다. C1q 단백질은 항원에 결합한 후 이러한 항체에 결합하여 C1 복합체를 형성한다. 이러한 복합체는 C1 에스테라제를 생성하는데, 이는C4 및 C2 단백질을 C4a 및 C4b, 및 C2a 및 C2b로 절단하여 활성화한다. 이어서, C2a 및 C4b 단편은 C3 전환효소로 불리는 단백질 복합체를 형성하며, 이는 C3을 C3a 및 C3b로 절단하여, 신호 증폭 및 막 공격 복합체의 형성을 유도한다.

[0296] 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 면역계에 의해 CDC 활성을 강화할 수 있다.

[0297] CDC는 항원 발현 세포(예를 들어, Raji 세포(ATCC))가 연속 희석된 항체, Fc-항원 결합 도메인 작제물, 또는 IVIg로 코팅되는 비색 분석법(colorimetric assay)을 사용하여 평가될 수 있다. 인간 혈청 보체(Quidel)를 25% v/v로 모든 웰에 첨가하고, 37℃에서 2시간 동안 배양할 수 있다. WST-1 세포 증식 시약(Roche Applied Science)을 첨가한 후 세포를 37℃에서 12시간 동안 배양할 수 있다. 플레이트를 2분간 진탕기에 놓고, 450 nm에서 흡광도를 측정할 수 있다.

[0298] **XV. 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)**

[0299] 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 또한 면역계에 의해 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성을 강화할 수 있다. ADCC는 항체가 외부 병원체의 표면 항원과 결합하여 그들을 사멸의 표적으로 하는 적응 면

역 시스템의 일부이다. ADCC 항체에 의한 자연 살해(NK) 세포의 활성화를 수반한다. NK 세포는 항체, 예컨대 IgG 및 IgM의 Fc 부분에 결합하는 Fc 수용체를 발현한다. 항체가 병원체에 감염된 표적 세포의 표면에 결합되면 이후에 NK 세포와 결합하여 이를 활성화한다. NK 세포는 IFN-γ와 같은 사이토카인과 퍼포린 및 그랜자임과 같은 단백질을 방출한다. 퍼포린은 칼슘의 존재 하에 올리고머화되는 기공 형성 세포용해소이다. 그랜자임은 표적 세포에서 프로그래밍된 세포 사멸을 유도하는 세린 프로테아제이다. NK 세포 외에, 대식세포, 호중구 및 호산구도 ADCC를 매개할 수 있다.

[0300] ADCC를 발광 분석을 사용하여 평가할 수 있다. 인간 1차 NK 효과기 세포(Hemacare)를 해동하고 37℃에서 하룻밤 동안 $5x10^5$/mL의 림프구 성장 배지-3(Lonza)에 정치시켰다. 다음날, 인간 림프아구성 세포주 Raji 표적 세포(ATCC CCL-86)를 수확하고, 분석 배지(페놀 레드 무함유 RPMI, 10% FBSΔ, GlutaMAX™)에서, 재현탁하여, 다양한 농도의 목적 프로브 각각의 존재 하에 30분 동안 37℃에서 도말한다. 이어서, 정치시킨 NK 세포를 수확하고, 분석 배지에서 재현탁하여, 항-CD20 코팅된 Raji 세포를 함유하는 플레이트에 첨가한다. 플레이트를 효과기-대-표적 세포의 최종 비율이 5:1($5x10^4$ NK 세포: $1x10^4$ Raji)가 되도록 37℃에서 6시간 동안 인큐베이션한다.

[0301] CytoTox-Glo쪠 세포독성 분석 키트(Promega)를 사용하여 ADCC 활성을 결정한다. CytoTox-Glo쪠 분석은 발광성 펩티드 기질을 사용하여, 막 무결성을 상실한 세포, 예를 들어 용해된 Raji 세포에 의해 방출된 죽은 세포 프로테아제 활성을 측정한다. 6시간 배양한 후, 준비한 시약(기질)을 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 실온에서 15분 동안 오비탈 플레이트 진탕기에 넣었다. 발광을 PHERAstar F5 플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 측정한다. 백그라운드를 제거하기 위해 대조 조건(NK 세포 + Raji만 해당)의 판독치를 시험 조건에서 뺀 후 데이터를 분석한다.

[0302] **XVI. 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)**

[0303] 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 또한 면역계에 의해 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 활성을 강화할 수 있다. 항체 옵소닌 작용으로도 알려진 ADCP는 병원체가 식세포에 의해 섭취되어 제거되도록 표시되는 과정이다. 식세포는 유해한 외래 병원체와 죽거나 죽어가는 세포를 섭취하여 신체를 보호하는 세포이다. 이 과정은 병원체-관련 분자 패턴(PAMPS)에 의해 활성화되어 NF-κB 활성화로 이어진다. 이어서, C3b 및 항체와 같은 옵소닌은 표적 병원체에 부착할 수 있다. 표적이 옵소닌에 코팅되면 Fc 도메인은 Fc 수용체를 통해 식세포를 유인한다. 이어서, 식세포가 세포를 삼키고, 물질을 섭취한 식세포는 리소좀과 융합된다. 이어서, 후속하는 파골리소좀은 세포성 물질을 단백질 분해로 소화시킨다.

[0304] ADCP는 생물발광 분석을 사용하여 평가할 수 있다. 항체 의존성 세포-매개 식균작용(ADCP)은 치료 항체의 중요한 작용 메커니즘이다. ADCP는 FcγRIIa(CD32a), FcγRI(CD64) 및 FcγRIIIa(CD16a)를 통해 단핵구, 대식세포, 호중구 및 수지상 세포에 의해 매개될 수 있다. 3가지 수용체는 모두 항체 인식, 면역 수용체 클러스터링 및 ADCP를 유발하는 신호전달에 참여할 수 있지만, 차단 연구는 FcγRIIa가 이러한 과정에 관여하는 주요 Fcγ 수용체임을 시사한다.

[0305] FcγRIIa-H ADCP 수용체 Bioassay는 FcγRIIa에 특이적으로 결합하여 이를 활성화하는 Fc 도메인을 사용하여 항체 및 다른 생물 제제의 효능과 안정성을 측정하는 데 사용할 수 있는 생물발광 세포 기반 분석이다. 이러한 분석은 아미노산 131에 히스티딘(H)과 NFAT-반응 요소(NFAT-RE)에 의해 유도되는 루시페라제 리포터를 함유하는 고친화도 인간 FcγRIIa-H 변이체를 발현하는 유전자 조작된 Jurkat T 세포주로 구성된다.

[0306] 표적 세포 및 관련 항체와 공배양하는 경우, FcγRIIa-H 효과기 세포는 항체의 Fc 도메인에 결합하여 FcγRIIa 신호전달 및 NFAT-RE 매개 루시페라제 활성을 유발한다. 생물발광 신호는 루시페라제 분석과 표준 발광 측정기를 사용하여 검출되고 정량화된다.

[0307] **실시예**

[0308] 하기 실시예는 본원에 청구된 방법 및 화합물을 수행하고, 제조하고, 평가하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하기 위해 기재되며, 본 개시 내용의 온전히 예시를 위한 것으로, 본 발명자들이 개시 내용으로 간주하는 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0309] **실시예 1. 선형 Fc-항원 도메인 함유 폴리펩티드의 조립을 제어하기 위한 직교 이종이량체화 도메인의 사용**

[0310] Fc 도메인 사이에 펩티드 링커를 포함하거나 포함하지 않는 직렬 Fc 작제물의 생산을 포함하여 항체의 C-말단에 Fc 도메인을 부가하는 다양한 접근법이 기재되어 있다(예를 들어, Nagashima 등의 문헌[*Mol Immunol*, 45:2752-

63, 2008, and Wang et al. *MAbs*, 9:393-403, 2017] 참조). 그러나, 과학 문헌에 기재된 다중 Fc 도메인을 갖는 항체 작제물을 제조하기 위한 방법은 이러한 방법이 다수의 Fc 도메인 함유 단백질의 원치 않는 종을 생산하기 때문에 그 효과가 제한적이다. 제품 생산 동안 폴리펩티드 사슬의 제어되지 않은 오프-레지스터 회합에 의해 생성되는 이러한 종은 분자량이 상이하여 가지므로 분자량의 사다리가 생긴다(예를 들어, Nagashima 등의 문헌 [*Mol Immunol*, 45:2752-63, 2008, and Wang et al. *MAbs*, 9:393-403, 2017] 참조). 도 1 및 도 2는 2개의 탠덤 Fc 단량체(도 1) 또는 3개의 탠덤 Fc 단량체(도 3)를 함유하는 폴리펩티드의 오프-레지스터 회합에 의해 생산될 수 있는 다양한 분자량의 다중 Fc 도메인을 갖는 단백질 종의 일부 예를 개략적으로 도시한다. 이러한 기존 접근법을 사용하여 정의된 분자량의 다중 Fc 도메인을 갖는 원하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 일관되게 얻으려면 더 큰 분자량의 고차종(HOS)의 제거가 요구되는데, 이는 원하는 작제물의 수율을 크게 감소시킨다.

[0311] 직교 이종이량체화 도메인을 사용함으로써 다량의 고차종(HOS)을 생성하지 않으면서도 탠덤 Fc 확장을 갖는 구조를 생산할 수 있었다. 도 3a 및 3b는 다중 Fc 도메인 단량체를 갖는 하나의 긴 폴리펩티드를 각각 단일 Fc 단량체를 포함하는 2개의 상이한 짧은 폴리펩티드에 연결하여 생성되는, 2개의 Fc 도메인(도 3a) 또는 3개의 Fc 도메인(도 3b)을 갖는 직교 선형 Fc-항원 도메인 결합 작제물의 예를 도시한다. 이러한 예에서, 각 작제물의 하나의 Fc 도메인은 Fc 도메인 CH_3-CH_3 계면에서 역전하 돌연변이와 조합된 노브-홀 돌연변이, 및 1개의 다른 Fc 도메인(도 3a) 또는 2개의 다른 Fc 도메인(도 3b)의 CH_3-CH_3 계면에 2개의 역전하 돌연변이를 포함한다. 2개의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 단량체을 갖는 짧은 폴리펩티드 사슬은 돌출부-형성 돌연변이 및 단일 역전하 돌연변이를 갖는 장쇄 Fc 단량체에 대해 더 낮은 친화성을 가지며, 2개의 양립성 역전하 돌연변이를 갖는 장쇄 Fc 단량체(들)에 결합할 가능성이 훨씬 크다. 역전하 돌연변이와 조합된 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 단량체를 갖는 짧은 폴리펩티드 사슬은 역전하 돌연변이와 조합된 돌출부-형성 돌연변이를 갖는 장쇄 Fc 단량체에 결합할 가능성이 훨씬 더 크다.

[0312] **실시예 2. 직교 이종이량체화 도메인을 사용해 생성할 수 있는 Fc 작제물 구조의 유형**

[0313] 표 3 및 표 4에서 선택된 상이한 노브-인투-홀 및/또는 정전기 역전하 돌연변이를 갖는 직교 이종이량체화 도메인은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 조립 중에 다중 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인의 포지셔닝을 제어하기 위해 상이한 폴리펩티드 사슬에 통합될 수 있다. 작제물로 조립되는 폴리펩티드 사슬에 적어도 2개의 직교 이종이량체화 도메인을 통합하는 설계 원리를 이용해 다양한 구조의 매우 다양한 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 생성할 수 있다.

[0314] 도 4는 직교 이종이량체화 기술을 사용하여 조립된 선형 탠덤 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 일부 예를 도시한다. 이들 구조적 예시는, 3개의 탠덤 Fc 도메인을 갖는 작제물을 따르는 다양한 특정 위치에서 다중 항원 결합 도메인의 포지셔닝을 제어하기 위한 상이한 두 세트의 이종이량체화 돌연변이(일 군의 Fc 도메인(A 및 B)으로 이루어진 Fc 단량체에서의 제1 세트의 이종이량체화 돌연변이, 및 또 다른 군의 Fc 도메인(C 및 D)로 이루어진 Fc 단량체에서의 제2 세트의 이종이량체화 돌연변이)의 용도를 나타낸다. 실시예 4, 5 및 6은 도 4a, 4b 및 4d의 개략도에 도시된 구조에 상응하는 직교 선형 Fc-항원 도메인 결합 작제물을 생산하는 것을 설명한다. 항-CD20 또는 항-PD-L1 도메인을 갖는 작제물 45, 46, 및 47은 원치 않는 고차종을 최소화하여 생산하였으며, CDC, ADCP 및 ADCC 분석을 사용하여 이의 작용성을 시험하였다.

[0315] 직교 이종이량체화 기술은 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열을 사용해, 항원 결합 도메인 및 Fc 도메인의 대칭 분포를 갖는 분지형 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 생성하는 데 사용될 수도 있다. 도 5는 이들 Fc 작제물의 일부 예를 도시한다. 작제물은, 한 세트의 이종이량체화 돌연변이(C 및 D 이종이량체화 쌍)를 사용해 하나의 Fc 도메인에서 함께 연결된 2개의 폴리펩티드 장쇄를 갖는다. 또 다른 세트의 이종이량체화 돌연변이(A 및 B 이종이량체화 쌍)는 장쇄 폴리펩티드의 추가 Fc 도메인 단량체가 단쇄 폴리펩티드의 비슷한 Fc 도메인 단량체와 결합하는 것을 촉진한다. 이들 분지형 작제물은 단일 동종이량체 화 Fc 도메인을 사용해 생성할 수 있는 것보다 대칭 분지형 작제물과 구조적으로 유사하다.

[0316] 비대칭 분지형 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 직교 이종이량체화 기술을 사용해 생산할 수도 있다. 도 6은 비대칭 분지형 Fc 작제물의 일부 예를 도시한다. 작제물들은 한 세트의 이종이량체화 돌연변이(C 및 D 이종이량체화 쌍)를 사용해, 하나의 Fc 도메인에서 상이한 수의 Fc 도메인을 갖는 상이한 길이의 2개의 폴리펩티드 사슬(예: 3개의 Fc 도메인을 갖는 폴리펩티드 사슬 및 2개의 Fc 도메인을 갖는 폴리펩티드 사슬)을 연결함으로써 생산된다. 다른 세트의 이종이량체화 돌연변이(A 및 B 이종이량체화 쌍)는 이들 폴리펩티드 사슬 상의 추가 Fc 도메인 단량체가 단쇄 폴리펩티드 상의 비슷한 Fc 도메인 단량체와 결합하는 것을 촉진한다. 대안적으로, 도 7은 한 세트의 이종이량체화 돌연변이(C 및 D 이종이량체화 쌍)를 사용해, 하나의 Fc 도메인에서 (동일한 수의 Fc 도메인

을 갖는) 2개의 폴리펩티드 장쇄를 분자 상에 비대칭으로 분포된 홀수의 항원 결합 도메인과 연결하여 생성된 비대칭 분지형 Fc 작제물의 예를 도시한다.

[0317] **실시예 3. 비대칭 분지형 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조**

[0318] 직교 이종이량체화 기술을 사용해 비대칭 분지형 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 효율적으로 생성할 수 있는지 여부를 시험하기 위해 2개의 상이한 Fc-함유 작제물을 설계하고 세포에서 생성하였다. 2개의 Fc 작제물(도 8 및 도 0)은 2세트의 이종이량체화 도메인 돌연변이를 사용해 3개의 상이한 폴리펩티드로부터 조립하였고, 각각 3개의 Fc 도메인을 가졌다. 2개의 작제물 모두는 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열을 사용해 Fc 도메인의 대칭 분포를 갖도록 분지한 Fc 작제물이며, 작제물 상에서 비대칭으로 분포된 단일 항-CD20 도메인을 각각 가졌다. 도 8은 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc 작제물을 도시하며, 여기서 Fc 도메인 중 2개는 하나의 정전기 스티어링 돌연변이와 함께 노브-인투-홀 돌연변이를 가졌고(S354C 및 T366W 돌출부 형성 돌연변이와 E357K 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체, 및 K370D 역전하 돌연변이와 함께 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 함몰부 형성 돌연변이를 갖는 다른 하나의 Fc 단량체), Fc 단량체 중 하나는 정전기 스티어링 돌연변이를 가졌다(D356K 및 D399K 역전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 단량체, 및 K392D 및 K409D 역전하 돌연변이를 갖는 다른 하나의 Fc 단량체). 도 9는, 동일한 이종이량체화 돌연변이를 사용해 조립된 도 8의 작제물에 비해 역 구조를 갖는 Fc 작제물을 도시하되, 도 9의 Fc 구조는 정전기 스티어링 돌연변이와 함께 노브-인투-홀 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 도메인 및 정전기 스티어링 돌연변이만을 갖는 2개의 Fc 도메인을 가졌다. 표 8은 이들 작제물에 대한 서열을 나타낸다.

표 8

[0319]

작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD20 VH 및 CH1 포함)	제2 Fc 장쇄 (항-CD20 VH 및 CH1 없음)	Fc 단쇄
도 8 작제물 (CD20)	서열 번호 61 DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGQ	서열 번호 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	서열 번호 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

도 9 작제물 (CD-20)	서열 번호 61	서열 번호	서열 번호	서열 번호
	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASI SCRSSKSLLHSNGITYLYWYL QKPGQSPQLLIYQMSNLVSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCAQNLELPYTFGG GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVS CKASGYAFSYSWINWVRQAPG QGLEWMGRIFPGDGDTDYNGK FKGRVTITADKSTSTAYMELS SLRSEDTAVYYCARNVFDGYW LVYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPCR DKLTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRKELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLKSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGQ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGKGGGG GGGGGGGGGGGGGGGGDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSRKELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLKSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGQ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYDTTPPVLDSDGSFFLYSD LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG

[0320] 각각의 작제물을 HEK 세포에서 발현시키고 SDS-PAGE로 매질을 분석하였다. 도 10은 바람직한 산물에 대해 예상한 바와 같이 도 8에 도시된 작제물에 대한 우세한 단백질 밴드가 200 kDa에 있었음을 보여준다. 200 kDa 산물을 생성할 수 있었던 이러한 작제물을 생성하는 데 사용된 4개의 아미노산 서열의 유일한 다른 조합은, Fab VH 및 CH1 도메인과 직렬로 배열된 2개의 Fc 도메인을 함유하는 2개의 장쇄 카피와 2개의 Fab 경쇄 카피와의 조합일 것이며, 이 경우 사슬의 모든 이종이량체화 돌연변이체가 자가-결합에 실패하였다. 그러나, 이종이량체화 Fc 서열의 이러한 자가-결합은 Fab가 없는 상응하는 작제물에서는 관찰되지 않았다(데이터 미도시). 유사하게, 도 11은 도 9에 도시된 작제물의 경우, 우세한 단백질 밴드가 이러한 산물에 대해 예상된 분자량인 200 kDa보다 약간 더 높은 분자량을 가졌음을 보여준다. 200 kDa 산물을 생성할 수 있었던 이러한 작제물을 생성하는 데 사용된 4개의 아미노산 서열의 유일한 다른 조합은, Fab VH 및 CH1 도메인과 직렬로 배열된 2개의 Fc 도메인을 함유하는 2개의 장쇄 카피와 2개의 Fab 경쇄 카피와의 조합일 것이며, 이 경우 사슬의 모든 이종이량체화 돌연변이체가 자가-결합에 실패하였다. 그러나, 이종이량체화 Fc 서열의 이러한 자가-결합은 Fab가 없는 상응하는 작제물에서는 관찰되지 않았다(데이터 미도시).

[0321] **실시예 4. 항-CD20 항원 결합 도메인 또는 항-PD-L1 항원 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 45의 설계 및 정제**

[0322] Fc-항원 결합 도메인 작제물은 폴딩 효율을 증가시키고, 원치 않는 고분자량의 올리고머 및 다량체를 생성할 수 있는 서브유닛의 제어되지 않은 결합을 최소화하며, 실질적으로 균질한(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% or 99% 균질한) 제약적 용도를 위한 조성물을 생성하도록 설계된다. 이러한 목표를 고려하여, 직렬 Fc 도메인으로부터 형성된 비분지형 작제물(도 12)을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 45(CD20) 및 작제물 45(PD-L1)는 각각 3개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(항-CD20 Fc 장쇄(서열 번호 239) 또는 항-PD-L1 Fc 장쇄(서열 번호 240); 항-CD20 Fc 단쇄(서열 번호 247) 또는 항-PD-L1 Fc 단쇄(서열번호 248)인 제1 Fc 단쇄의 카피; 및 제2 Fc 단쇄(서열 번호 63)의 2개의 카피), 및 항-CD20 경쇄 폴리펩티드(서

열 번호 61) 또는 항-PD-L1 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 2개의 카피를 각각 포함한다. Fc 장쇄는 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각은 표 3으로부터 선택된 돌출부-형성 돌연변이의 세트 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 N-말단에서의 항원 결합 도메인과 탠덤 연결로 포함한다(제1 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체와 다른 이종이량체화 돌연변이 세트를 가짐). 제1 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제1 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제2 세트의 돌연변이와 상이함), 및 N-말단에서의 항원 결합 도메인을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제2 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제1 세트의 돌연변이와 상이함)를 함유한다.

[0323] 이 경우에, Fc 장쇄는 D356K 및 D399K 전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 도메인 단량체를 S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체와 직렬 탠덤으로 함유하고, N-말단에서의 항-CD20 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 45(CD20) 또는 N-말단에서의 항-PD-L1 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 45(PD-L1))을 함유한다. 제1 Fc 단쇄는 K392D 및 K409D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체, 및 N-말단에서의 항-CD20 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 45(CD20)) 또는 N-말단에서의 항-PD-L1 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 45(PD-L1))을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 함몰부 형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다.

표 9

작제물 45(CD20) 및 작제물 45(PD-L1) 서열				
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD20 또는 항-PD-L1 VH 및 CH1 을 포함)	제 1 Fc 단쇄 (항-CD20 또는 항-PD-L1 VH 및 CH1 을 포함)	제 2 Fc 단쇄
작제물 45 (CD20)	서열번호 61 DIVMTQTPLSLPVT PGEPASISCRSSK SLLHSNGITYLYW YLQKPGQSPQLLI YQMSNLVSGVPD RFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVY YCAQNLELPYTFG GGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLK SGTASVVCLLNNF YPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC	서열 번호 239 QVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASG YAFSYSWINWVRQ APGQGLEWMGRI FPGDGDTDYNGK FKGRVTITADKSTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARNVFDG YWLVYWGQGTLV TVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDKLTK NQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGKGGG GGGGGGGGGGG GGGGGGDKTHTC PPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDK LTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWES	서열 번호 247 QVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASG YAFSYSWINWVRQ APGQGLEWMGRI FPGDGDTDYNGK FKGRVTITADKSTS TAYMELSSLRSED TAVYYCARNVFDG YWLVYWGQGTLV TVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQ PENNYDTTPPVLD SDGSFFLYSDLTV DKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	서열 번호 63 DKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQ VSLSCAVDGFYPS DIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQK SLSLSPG

[0324]

		NGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK GGGGGGGGGGG GGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS RKELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYK TTPPVLKSDGSFF LYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSL SPGQ		
작제물 45 (PD-L1)	서열 번호 49 QSALTQPASVSGS PGQSITISCTGTSS DVGGYNYVSWYQ QHPGKAPKLMIYD VSNRPSGVSNRFS GSKSGNTASLTIS GLQAEDEADYYCS SYTSSSTRVFGTG TKVTVLGQPKANP TVTLFPPSSEELQ ANKATLVCLISDFY PGAVTVAWKADG SPVKAGVETTKPS KQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEK TVAPTECS	서열 번호 240 EVQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FTFSSYIMMWVRQ APGKGLEWVSSIY PSGGITFYADTVK GRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDT AVYYCARIKLGTVT TVDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQV YTLPPCRDKLTKN QVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVD	서열번호 248 EVQLLESGGGLVQ PGGSLRLSCAASG FTFSSYIMMWVRQ APGKGLEWVSSIY PSGGITFYADTVK GRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDT AVYYCARIKLGTVT TVDYWGQGTLVT VSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKN QVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQP ENNYDTTPPVLDS DGSFFLYSDLTVD	서열 번호 63 DKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVC TLPPSRDELTKNQ VSLSCAVDGFYPS DIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDK SRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQK SLSLSPG

[0325]

		KSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGKGGGG GGGGGGGGGGG GGGGGDKTHTCP PCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCRDKL TKNQVSLWCLVKG FYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKG GGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKTH TCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPS RKELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYK TTPPVLKSDGSFF LYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSL SPGQ	KSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG	

[0326]

[0327] *세포 배양*

[0328] DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포좀을 통해 형질감염시켰다. 짧은 및 긴 Fc 사슬에 대한 아미노산 서열은 다중 플라스미드에 의해 암호화되었다.

[0329] *단백질 정제*

[0330] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 로딩 후 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.0)로 세정하고, 추가 공정 관련 불순물을 제거하기 위해 중간 세정 완충액 50mM 구연산염 완충액 (pH 5.5)으로 추가 세정하였다. 결합된 Fc 작제물을 100 mM 글리신, pH 3으로 용리하고, 용출액을 1M TRIS pH 7.4를 첨가하여 신속하게 중화한 후, 원심분리하여, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과하였다.

[0331] 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분획하였다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고, 샘플을 평형화 완충액(equilibration buffer)에 희석(1:3)하여 로딩하였다. 용리 완충액으로서 50 mM MES(100% A)에서 pH 6의 400 mM 염화나트륨(100% B)까지의 12~15 CV 선형 구배를 사용하여 샘플을 용리하였다. 용출 동안 수집된 모든 분획은 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하고, 표적 분획을 풀링하여 정제된 Fc 작제물 재료를 생성하였다.

[0332] 이온 교환 후에, 표적 분획을 접선 유동 여과 시스템 상에서 30 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 1X-PBS로 완충액 교환하였다. 샘플을 대략 10~15 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과하였다.

[0333] *비환원 황산도데실나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영도(SDS-PAGE)*

[0334] 샘플을 95℃에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시켰다. Criterion TGX 무착색(stain-free) 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘렸다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루

(Coommassie blue) 염색으로 시각화하였다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화하였다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드를 정량 분석하였다.

[0335] **실시예 5. 항-CD20 항원 결합 도메인 또는 항-PD-L1 항원 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 46의 설계 및 정제**

[0336] 직렬 Fc 도메인으로부터 형성된 비분지형 작제물(도 13)을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 46(CD20) 및 작제물 46(PD-L1)은 각각 3개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄(서열 번호 241); 제1 Fc 단쇄(서열 번호 236)의 카피; 및 항-CD20 Fc 단쇄(서열 번호 67) 또는 항-PD-L1 Fc 단쇄(서열 번호 68)인 제2 Fc 단쇄의 2개의 카피), 및 항-CD20 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 61) 또는 항-PD-L1 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 2개의 카피를 각각 포함한다. Fc 장쇄는 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각은 표 3으로부터 선택된 돌출부-형성 돌연변이의 세트 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 탠덤 연결로 포함한다(제1 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체와 다른 이종이량체화 돌연변이 세트를 가짐). 제1 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제1 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다(돌연변이는 제2 Fc 단쇄의 제2 세트의 돌연변이와 상이함). 제2 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제2 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제1 세트의 돌연변이와 상이함), 및 N-말단에서의 항원 결합 도메인을 함유한다.

[0337] 이 경우, Fc 장쇄는 D356K 및 D399K 전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 도메인 단량체를 S354C 및 T366W 돌출부 형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체와 직렬 연결로 함유한다. 제1 Fc 단쇄는 K392D 및 K409D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체, 및 N-말단에서의 항-CD20 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 46(CD20)) 또는 N-말단에서의 항-PD-L1 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 45(PD-L1))을 함유한다.

표 10

[0338]

작제물 46(CD20) 및 작제물 46(PD-L1) 서열				
작제물	경쇄	Fc 장쇄	제1 Fc 단쇄	제2 Fc 단쇄 (항-CD20 또는 항-PD-L1 VH 및 CH1을 포함)

작제물 46(CD20)	서열번호 61	서열 번호 241	서열 번호 236	서열 번호 67
	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGQ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

작제물 46(PD-L1)	서열 번호 49	서열 번호 241	서열 번호 236	서열 번호 68
	QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYDVSNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL GQPKANPTVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSPVKAGVETTKPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGGGGGGGGGGG GGGGGDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRKELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLKSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGQ	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYDTTPP VLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSSYIMMWVRQAPG KGLEWVSSIYPSGGITFYADT VKGRFTISRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARIKLGTVT TVDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVCTLPPS RDELTKNQVSLSCAVDGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG

[0339] *세포 배양*

[0340] DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포좀을 통해 형질감염시켰다. 짧은 및 긴 Fc 사슬에 대한 아미노산 서열은 다중 플라스미드에 의해 암호화되었다.

[0341] *단백질 정제*

[0342] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 로딩 후 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.0)로 세정하고, 추가 공정 관련 불순물을 제거하기 위해 중간 세정 완충액 50mM 구연산염 완충액 (pH 5.5)으로 추가 세정하였다. 결합된 Fc 작제물을 100 mM 글리신, pH 3으로 용리하고, 용출액을 1M TRIS pH 7.4를 첨가하여 신속하게 중화한 후, 원심분리하여, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과하였다.

[0343] 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분획하였다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고, 샘플을 평형화 완충액(equilibration buffer)에 희석(1:3)하여 로딩하였다. 용리 완충액으로서 50 mM MES(100% A)에서 pH 6의 400 mM 염화나트륨(100% B)까지의 12~15 CV 선형 구배를 사용하여 샘플을 용리하였다. 용출 동안 수집된 모든 분획은 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하고, 표적 분획을 풀링하여 정제된 Fc 작제물 재료를 생성하였다.

[0344] 이온 교환 후에, 표적 분획을 접선 유동 여과 시스템 상에서 30 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 1X-PBS로 완충액 교환하였다. 샘플을 대략 10~15 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과하였다.

[0345] *비환원 황산도데실나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영도(SDS-PAGE)*

[0346] 샘플을 95℃에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시켰다. Criterion TGX 무착색(stain-free) 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘렸다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루

(Coommassie blue) 염색으로 시각화하였다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화하였다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드를 정량 분석하였다.

[0347] **실시예 6. 항-CD20 항원 결합 도메인 또는 항-PD-L1 항원 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 47의 설계 및 정제**

[0348] Fc-항원 결합 도메인 작제물은 폴딩 효율을 증가시키고, 원치 않는 고분자량의 올리고머 및 다량체를 생성할 수 있는 서브유닛의 제어되지 않은 결합을 최소화하며, 실질적으로 균질한(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% or 99% 균질한) 제약적 용도를 위한 조성물을 생성하도록 설계된다. 이러한 목표를 고려하여, 직렬 Fc 도메인으로부터 형성된 비분지형 작제물(도 14)을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 47(CD20) 및 작제물 47(PD-L1)은 3개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄(서열 번호 243); 항-CD20 Fc 단쇄(서열 번호 247) 또는 항-PD-L1 Fc 단쇄(서열 번호 248)인 제1 Fc 단쇄의 2개의 카피; 및 제2 Fc 단쇄(서열 번호 63)의 카피), 및 항-CD20 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 61) 또는 항-PD-L1 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 2개의 카피를 각각 포함한다. Fc 장쇄는 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각은 표 3으로부터 선택된 돌출부-형성 돌연변이(이종이량체화 돌연변이)의 세트 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 탠덤 연결로 포함한다(제3 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체와 다른 이종이량체화 돌연변이 세트를 가짐). 제1 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제1 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제2 세트의 돌연변이와 상이함), 및 N-말단에서의 항원 결합 도메인을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제2 세트의 함몰부-형성 돌연변이 및/또는 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제1 세트의 돌연변이와 상이함)를 함유한다.

[0349] 이 경우, Fc 장쇄는 각각 D356K 및 D399K 전하 돌연변이를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 이들 단량체는 S354C 및 T366W 돌출부 형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체와 탠덤 연결된다. 제1 Fc 단쇄는 K392D 및 K409D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체, 및 N-말단에서의 항-CD20 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 47(CD20)) 또는 N-말단에서의 항-PD-L1 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 47(PD-L1))을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 함몰부 형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다.

표 11

[0350]

작제물 47(CD20) 및 작제물 47(PD-L1) 서열				
작제물	경쇄	Fc 장쇄	제1 Fc 단쇄 (항-CD20 또는 항-PD-L1 VH 및 CH1을 포함)	제2 Fc 단쇄

작제물 47(CD20)	서열 번호 61	서열 번호 243	서열 번호 247	서열 번호 63
	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGQKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGQ	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

작제물 47(PD-L1)	서열 번호 49	서열 번호 243	서열번호 248	서열 번호 63
	QSALTQPASVSGSPGQSITISC TGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGK APKLMIYDVSNRPSGVSNRFSG SKSGNTASLTISGLQAEDEADY YCSSYTSSSTRVFGTGTKVTVL GQPKANPTVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSPVKAGVETTKPSKQSNNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSSYIMMWVRQAPGKG LEWVSSIYPSGGITFYADTVKG RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRA EDTAVYYCARIKLGTVTTVDYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLKSDGSFFLYSDLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLW CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVDGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREP QVCTLPPSRDELTKNQVSLSC AVDGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG

[0351] *세포 배양*

[0352] DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포좀을 통해 형질감염시켰다. 짧은 및 긴 Fc 사슬에 대한 아미노산 서열은 다중 플라스미드에 의해 암호화되었다.

[0353] *단백질 정제*

[0354] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 로딩 후 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.0)로 세정하고, 추가 공정 관련 불순물을 제거하기 위해 중간 세정 완충액 50mM 구연산염 완충액 (pH 5.5)으로 추가 세정하였다. 결합된 Fc 작제물을 100 mM 글리신, pH 3으로 용리하고, 용출액을 1M TRIS pH 7.4를 첨가하여 신속하게 중화한 후, 원심분리하여, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과하였다.

[0355] 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분획하였다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고, 샘플을 평형화 완충액(equilibration buffer)에 희석(1:3)하여 로딩하였다. 샘플을 용출 완충액으로 50 mM MES (100% A)에서 400 mM 염화나트륨, pH 6(100% B)으로 12~15CV의 선형 구배를 사용하여 용리하였다. 용출 동안 수집된 모든 분획은 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하고, 표적 분획을 풀링하여 정제된 Fc 작제물 재료를 생성하였다.

[0356] 이온 교환 후에, 표적 분획을 접선 유동 여과 시스템 상에서 30 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 1X-PBS로 완충액 교환하였다. 샘플을 대략 10~15 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과하였다.

[0357] *비환원 황산도데실나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE)*

[0358] 샘플을 95℃에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시켰다. Criterion TGX 무착색(stain-free) 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘렸다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루(Coommassie blue) 염색으로 시각화하였다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화하였다.

Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드를 정량 분석하였다.

[0359] **실시예 7. 항-CD20 항원 결합 도메인 또는 항-PD-L1 항원 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 48의 설계 및 정제**

[0360] 직렬 Fc 도메인으로부터 형성된 비분지형 작제물(도 15)을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 48(CD20) 및 작제물 48(PD-L1)은 3개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄(서열 번호 A); 항-CD20 Fc 단쇄(서열 번호 Y) 또는 항-PD-L1 Fc 단쇄(서열 번호 Y)인 제1 Fc 단쇄의 4개의 카피; 및 제2 Fc 단쇄의 하나의 카피), 및 항-CD20 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 61) 또는 항-PD-L1 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 2개의 카피를 각각 포함한다. Fc 장쇄는 5개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각은 표 3으로부터 선택된 돌출부-형성 돌연변이(이종이량체화 돌연변이)의 세트, 및 임의로 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 탠덤 연결로 포함한다(제1, 제2, 제3, 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제5 Fc 도메인 단량체와 다른 이종이량체화 돌연변이 세트를 가짐). 제1 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제1 세트의 함몰부-형성 돌연변이, 및 임의로 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제2 Fc 단쇄의 제2 세트의 돌연변이와 상이함), 및 N-말단에서의 항원 결합 도메인을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 표 3으로부터 선택된 제2 세트의 함몰부-형성 돌연변이, 및 임의로 표 4로부터 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체(돌연변이는 제1 Fc 단쇄의 제1 세트의 돌연변이와 상이함)를 함유한다.

[0361] 이 경우, Fc 장쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 4개의 Fc 도메인 단량체를, (이종이량체화를 촉진하기 위한) K409D/D399K 전하 돌연변이를 갖는 하나의 Fc 도메인 단량체와 탠덤 연결로 함유한다. 제1 Fc 단쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체, 및 N-말단에서의 항-CD20 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 48(CD20)) 또는 N-말단에서의 항-PD-L1 VH와 CH1 도메인(EU 위치 1~220)(작제물 48(PD-L1))을 함유한다. 제2 Fc 단쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) K409D/D399K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다.

[0362] *세포 배양*

[0363] DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포좀을 통해 형질감염시킨다. Fc 단쇄 및 장쇄에 대한 아미노산 서열은 다중 플라스미드에 의해 암호화된다.

[0364] *단백질 정제*

[0365] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액에서부터 정제한다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 로딩한 후 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.0)로 세척하고, 중간 세척 완충액인 50 mM 구연산염 완충액(pH 5.5)으로 추가로 세척하여 추가 공정 관련 불순물을 제거한다. 결합된 Fc 작제 물질을 pH 3의 100 mM 글리신으로 용리하고, pH 7.4의 1 M TRIS를 첨가하여 용리액을 신속하게 중화한 후, 원심분리하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0366] 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분획화한다. pH 6의 50 mM MES(완충액 A)로 컬럼을 사전 평형화하고, 로딩을 위해 샘플을 평형화 완충액에 (1:3으로) 희석한다. 용리 완충액으로서 50 mM MES(100% A)에서 pH 6의 400 mM 염화나트륨(100% B)까지의 12~15 CV 선형 구배를 사용하여 샘플을 용리한다. 용리 중에 수집된 모든 분획을 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하고, 표적 분획을 풀링하여 정제된 Fc 작제 물질을 생성한다.

[0367] 이온 교환 후에, 표적 분획을 접선 유동 여과 시스템 상에서 30 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 1X-PBS로 완충액 교환한다. 샘플을 약 10~15 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0368] *비환원 황산도데실나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE)*

[0369] 샘플을 95℃에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시킨다. Criterion TGX 무착색(stain-free) 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘린다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루(Coommassie blue) 염색으로 시각화한다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화한다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드의 정량화를 수행한다.

[0370] **실시예 9. Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특성화하는 데 사용된 실험적 검정**

[0371] *펩티드 및 글리코펩티드 액체 크로마토그래피-MS/MS*

[0372] 단백질(Fc 작제물)을 6 M 구아니딘(Sigma)에 1 μg/μL로 희석하였다. 디티오트레이톨(Dithiothreitol, DTT)을 10 mM의 농도에 첨가하여 65℃에서 30분간 변성 조건하에서 이황화 결합을 감소시켰다. 얼음에서 냉각한 후, 샘플을 어두운 상태로 1시간 동안 30 mM 요오드아세트아미드(IAM)로 배양하여 유리 티올을 알킬화(카바미도메틸화(carbamidomethylate))하였다. 이어서, 단백질을 10-kDa 막을 통해 25 mM 중탄산암모늄 완충액(pH 7.8)으로 투석하여 IAM, DTT, 및 구아니딘을 제거하였다. 단백질을 Barocycler(NEP 2320; Pressure Biosciences, Inc.)에서 트립신으로 분해하였다. 압력은 37℃에서 20,000 psi와 대기압 사이에서 1시간 동안 총 30 사이클 순환시켰다. Ultimate 3000(Dionex) 크로마토그래피 시스템 및 Q-Exactive(Thermo Fisher Scientific) 질량 분석기에서 펩티드의 LC-MS/MS 분석을 수행하였다. 물 중의 0.1% FA 및 아세토니트릴 중의 0.1% FA를 이동상으로 사용하여 BEH PepMap(Waters) 컬럼에서 단백질을 분리하였다.

[0373] *원형 질량 분석(Intact Mass Spectrometry)*

[0374] 50 μg의 단백질 (Fc 작제물)을 10 kDa 스핀 필터(EMD Millipore)를 사용하여 1μg/μL의 농도로 50 mM 중탄산암모늄(pH 7.8)으로 완충액 교환하였다. 30 유닛 PNGase F(Promega)를 샘플에 첨가하고 37° C에서 5시간 동안 인큐베이션하였다. 물 중의 0.1% FA 및 아세토니트릴 중의 0.1% FA를 이동상으로 사용하여 Waters Acquity C4 BEH 컬럼(1x100 mm, 1.7 um 입도, 300A 기공 크기)에서 분리를 수행하였다. Ultimate 3000(Dionex) 크로마토그래피 시스템 및 Q-Exactive(Thermo Fisher Scientific) 질량 분석기에서 LC-MS를 수행하였다. 스펙트럼은 Biopharma Finder(Thermo Fisher Scientific)의 기본 ReSpect 방법을 사용하여 디컨볼루션하였다.

[0375] *모세관 전기영동-도데실 황산나트륨(CE-SDS) 분석*

[0376] 샘플을 1 mg/mL로 희석하고 HT Protein Express 변성 완충액(PerkinElmer)과 혼합하였다. 혼합물을 40℃에서 20분간 배양하였다. 샘플을 물 70 μL로 희석하였고 96-웰 플레이트로 옮겼다. HT Protein Express LabChip(PerkinElmer)이 장착된 Caliper GXII 기기(PerkinElmer)로 샘플을 분석하였다. 형광 강도를 사용하여 각각의 크기 변형의 상대 존재비를 산출하였다.

[0377] *비환원 SDS-PAGE*

[0378] 샘플을 95℃에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시켰다. Criterion TGX 무착색(stain-free) 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘렸다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루(Coommassie blue) 염색으로 시각화하였다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화한다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드의 정량화를 수행한다.

[0379] *보체 의존성 세포독성(CDC)*

[0380] Raji 세포(ATCC)를 연속 희석된 리툭시맙, Fc 작제물, 또는 IVIg로 코팅하는 비색 분석법으로 CDC를 평가하였다. 인간 혈청 보체(Quidel)를 25% v/v로 모든 웰에 첨가하였고 37℃에서 2시간 동안 배양하였다. WST-1 세포 증식 시약(Roche Applied Science)을 첨가한 후 세포를 37℃에서 12시간 동안 배양하였다. 플레이트를 2분간 진탕기에 두었고, 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

[0381] **실시예 10. 항-CD20 Fc 작제물에 의한 보체 의존성 세포독성(CDC) 활성화**

[0382] CDC 분석을 개발하여 항-CD20 Fc 작제물이 항-CD20 단클론 항체인 오비누투주맙에 비해 CDC 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. Gazyva의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-CD20 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각 항-CD20 Fc 작제물 및 오비누투주맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행된 CDC 분석으로 시험하였다:

[0383] 10% 열-불활성화 FBS가 보충된 RPMI-1640에서 성장한 Daudi 세포를 펠릿화하고 얼음처럼 차가운 PBS로 1회 세정하여, 1.0 x 10^6개의 생존 세포/mL의 농도로 0.1 % BSA를 함유하는 RPMI-1640에 재현탁하였다. 이러한 세포 현탁액 50 마이크로리터를 96-웰 플레이트의 모든 웰(플레이트 가장자리 제외)에 첨가하였다. 첨가가 모두 완료될 때까지 플레이트를 얼음 위에 보관하였다. 시험 물품을 RPMI-1640 + BSA에서 450 nM의 시작 농도에서 4배 연속 희석하였다. 각 시험 물품에 대해 총 10가지 농도를 시험했습니다. 도말된 Daudi 세포에 각각 50 마이크로리터를 첨가하였다. 정상 또는 C1q-고갈 인간 보체 혈청(Quidel, San Diego, CA)을 RPMI-1640 + BSA에서 1:5로 희석하였다. 도말된 Daudi 세포에 각각 50 마이크로리터를 첨가하였다. 6개의 정상 혈청 대조군 웰에 세포, 배지 단독(처리 없음) 및 1/5 정상 혈청(정상 백그라운드)을 제공하였다. 이들 웰 중 3개에는 16.5 μL Triton X-

100(Promega, Madison, WI)(정상 용해 대조군)도 제공하였다. C1q 고갈 백그라운드 및 용해 대조군을 유사하게 제조하였다. PBS를 모든 플레이트 에지 웰에 첨가하였다. 플레이트를 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2시간 후, 50 μL의 예열한 Alamar blue(Thermo, Waltham, MA)를 모든 웰(플레이트 가장자리 제외)에 첨가하였다. 플레이트를 하룻밤 동안 인큐베이터로 다시 넣었다(37℃에서 18시간). 18시간 후 FlexStation 3에서 형광을 측정하였다. 플레이트를 544/590 Ex/Em 필터 및 Auto Cut-Off를 사용하여 판독하였다. 정상 백그라운드, 정상 용해 대조군, C1q 고갈 백그라운드 및 C1q 고갈 용해 대조군 웰의 평균을 계산하였다. 세포 용해율은 다음과 같이 계산하였다:

[0384] % 세포 용해 = (RFU 시험 - RFU 백그라운드) /(RFU 용해 대조군 - RFU 백그라운드) * 100. 각 작제물에 대해 EC50 (nM)을 결정하였다.

[0385] 표 12에 도시된 바와 같이, 항-CD20 Fc 작제물은 더 낮은 EC50 값에 의해 입증된 바와 같이 Daudi 세포에서 CDC를 유도하고 오비누투주맙 단클론 항체에 비해 세포독성을 강화하는 데 있어서 더 큰 효능을 나타냈다.

표 12

[0386]

Daudi 세포에서 CDC를 유도하는 항-CD20 Fc 작제물의 효능				
작제물[1]	**n**	**EC50 (nM)**		
		범위	**평균**	**SD**
IgG1 항체, 푸코실화	5	38 - 65	47	11
S3L-AA2-OBI 작제물 45 (항-CD20)	2	0.50 - 0.57	0.54	0.046
S3L-0AA2-OBI 작제물 46 (항-CD20)	4	0.20 - 0.25	0.23	0.025
S3L-0A22-OBI2 작제물 47 (항-CD20)	4	0.16 - 0.21	0.18	0.027

[0387] [1]달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0388] **실시예 11. 항-PD-L1 Fc 작제물에 의한 보체 의존성 세포독성(CDC) 활성화**

[0389] CDC 검정을 개발하여 항-PD-L1 단클론 항체인 아벨루맙(Bavencio) 대비 항-PD-L1 Fc 작제물이 CDC 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. 아벨루맙의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-PD-L1 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각각의 항-PD-L1 Fc 작제물, 및 푸코실화 및 탈푸코실화 아벨루맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행한 CDC 검정에서 시험하였다:

[0390] 인간 PD-L1 유전자를 안정적으로 발현하도록 형질감염시킨 인간 배아 신장(HEK) 세포주(CrownBio)를 선택 마커로서 DMEM, 10% FBS, 및 2 μg/mL 퓨로마이신 중에서 배양하였다. 세포를 수확하고 제네테신(genetecin) 또는 페놀 레드(phenol red)(Lonza) 없이 X-Vivo-15 배지에서 희석하였다. 100 μl의 HEK-PD-L1 세포(6 x10^5 세포/mL)를 96 웰 조직 배양물로 처리한 바닥이 편평한 플레이트(BD Falcon)에 도말하였다. Fc 작제물과 항체를 X-Vivo-15 배지에서 1:3으로 연속 희석하였다. 50 μL의 희석된 작제물을 웰 내의 표적 세포 위에 첨가하였다. 희석하지 않은 50 μl의 인간 혈청 보체(Quidel Corporation)를 웰 각각에 첨가하였다. 그런 다음, 검정 플레이트를 37℃에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2시간의 인큐베이션 후, 20 μL의 WST-1 세포 증식제(Roche Diagnostics Corp)를 각각의 웰에 첨가하고, 37℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음날 아침, 검정 플레이트를 2 내지 5분 동안 플레이트 진탕기 상에 두었다. 분광 광도계(Molecular Devices SPECTRAmax M2)를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하고 600 nm에서 보정하였다. 각 작제물에 대해 EC50 (nM)을 결정하였다.

[0391] 표 13에 표시된 바와 같이, 항-PD-L1 Fc 작제물 47은 인간 PD L1을 발현하는 HEK 세포에서 CDC를 유도했지만, 나머지 항-PD-L1 Fc 작제물과 아벨루맙 단클론 항체는 이러한 검정을 사용했을 때, CDC를 유도하는 것으로 나타

나지는 않았다.

표 13

[0392]

PD-L1 발현 HEK 세포에서 CDC를 유도하는 항-PD-L1 작제물의 효능				
작제물[1]	n	EC50 (nM)		
		범위	평균	SD
IgG1 항체, 푸코실화	7	CDC 활성 없음[2]	CDC 활성 없음[2]	해당 없음
IgG1 항체, 탈푸코실화	1	CDC 활성 없음2	CDC 활성 없음2	해당 없음
3L-AA2-AVE 작제물 45 (항-PD-L1)	1	CDC 활성 없음[2]	CDC 활성 없음[2]	해당 없음
S3L-AA2-2AVE 작제물 46 (항-PD-L1)	1	결정되지 않음	결정되지 않음	해당 없음
S3L-A22-2AVE 작제물 47 (항-PD-L1)	2	1.4 - 2.7	1.6	1.1

[0393] [1]달리 언급되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함함. [2]검증 조건 하에서 작제물은 검출 가능한 CDC를 생성하지 않음.

[0394] **실시예 12. 항-CD20 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 활성화**

[0395] *ADCP 리포터 검정*

[0396] ADCP 리포터 검정을 개발하여 항-CD20 단클론 오비누투주맙 항체(Gazyva)에 비해 항-CD20 Fc 작제물이 FcγRIIa 신호전달을 활성화하여, ADCP 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. Gazyva의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-CD20 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각각의 항-CD20 Fc 작제물 및 푸코실화 및 탈푸코실화 오비누투주맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행한 ADCC 리포터 검정에서 시험하였다:

[0397] Raji 표적 세포(1.5×10^4개의 세포/웰) 및 Jurkat/FcγRIIa-H 효과기 세포(Promega)(3.5×10^4개의 세포/웰)을 4% 저 IgG 혈청이 보충된 RPMI 1640 배지(Promega)에 재현탁하고 연속 희석된 항-CD20 Fc 작제물을 갖는 96-웰 플레이트에 접종하였다. 5% CO_2에서 37℃에서 6시간 동안 배양한 후, PHERAstar FS 발광 측정기(BMG LABTECH)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 Bio-Glo 루시퍼라제 분석 시약(Promega)을 사용하여 발광을 측정하였다.

[0398] 표 14에 도시된 바와 같이, 항-CD20 Fc 작제물은 더 낮은 EC50 값에 의해 입증된 바와 같이 오비누투주맙 단클론 항체에 비해 ADCP 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하였고, ADCP 활성을 강화하는 데 있어서 더 큰 효능을 나타냈다.

표 14

[0399]

ADCP 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하는 항-CD20 Fc 작제물의 효능				
작제물[1]	n	EC50 (nM)		
		범위	평균	SD
IgG1 항체, 푸코실화	6	4.5 - 10.8	7.1	2.2
IgG1 항체, 탈푸코실화	3	5.5 - 6.1	5.8	0.3
S3L-AA2-OBI 작제물 45 (항-CD20)	1	0.13	0.13	해당 없음

S3L-0AA2-0BI 작제물 46 (항-CD20)	1	0.17	0.17	해당 없음
S3L-0A22-0BI2 작제물 47 (항-CD20)	1	0.08	0.08	해당 없음

[0400] [1]달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0401] **실시예 13. 항-PD-L1 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 활성화**

[0402] *ADCP 리포터 검정*

[0403] ADCP 리포터 검정을 개발하여 항-PD-L1 단클론 항체인 아벨루맙(Bavencio)에 비해 항-PD-L1 Fc 작제물이 FcγRIIa 신호전달을 활성화하여, ADCP 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. 아벨루맙의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-PD-L1 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각각의 항-PD-L1 Fc 작제물, 및 푸코실화 및 탈푸코실화 아벨루맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행한 ADCC 리포터 검정에서 시험하였다:

[0404] 표적 HEK-PD-L1 세포(1.5 x 10^4개의 세포/웰) 및 효과기 Jurkat/FcγRIIa-H 세포(Promega)(3.5 x 10^4개의 세포/웰)을 4% 저 IgG 혈청이 보충된 RPMI 1640 배지(Promega)에 재현탁하고 연속 희석된 항-PD-L1 Fc 작제물을 갖는 96-웰 플레이트에 접종하였다. 5% CO2에서 37℃에서 6시간 동안 배양한 후, PHERAstar FS 발광 측정기(BMG LABTECH)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 Bio-Glo 루시퍼라제 분석 시약(Promega)을 사용하여 발광을 측정하였다.

[0405] 표 15에 도시된 바와 같이, 항-PD-L1 Fc 작제물은 ADCP 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하였다.

표 15

[0406]

ADCP 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하는 항-PD-L1 Fc 작제물의 효능				
작제물 번호[1]	**n**	**EC50 (nM)**		
		범위	**평균**	**SD**
IgG1 항체, 푸코실화	6	효과 없음[2]	효과 없음[2]	해당 없음
IgG1 항체, 탈푸코실화	1	효과 없음[2]	효과 없음[2]	해당 없음
S3L-AA2-AVE 작제물 45 (항-PD-L1)	1	0.031	0.031	해당 없음
S3L-AA2-2AVE 작제물 46 (항-PD-L1)	1	0.03	0.03	해당 없음
S3L-A22-2AVE 작제물 47 (항-PD-L1)	1	0.03	0.03	해당 없음

[0407] [1]달리 언급되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함함. [2]검증 조건 하에서 작제물은 검출 가능한 FcγRIIa 신호 전달을 유도하지 않음.

[0408] **실시예 14. 항-CD20 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성화**

[0409] *ADCC 리포터 검정*

[0410] ADCC 리포터 검정을 개발하여 항-CD20 단클론 항체인 오비누투주맙(Gazyva)에 비해 항-CD20 Fc 작제물이 FcγRIIa 신호전달을 활성화하여, ADCC 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. Gazyva의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-CD20 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각각의 항-CD20

Fc 작제물 및 푸코실화 오비누투주맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행한 ADCC 리포터 검정에서 시험하였다:

[0411] Raji 표적 세포(1.25 x 10^4개의 세포/웰) 및 Jurkat/FcγRIIIa 효과기 세포(Promega)(7.45 x 10^4개의 세포/웰)을 4% 저 IgG 혈청이 보충된 RPMI 1640 배지(Promega)에 재현탁하고 연속 희석된 항-CD20 Fc 작제물을 갖는 96-웰 플레이트에 접종하였다. 5% CO2에서 37℃에서 6시간 동안 배양한 후, PHERAstar FS 발광 측정기(BMG LABTECH)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 Bio-Glo 루시퍼라제 분석 시약(Promega)을 사용하여 발광을 측정하였다.

[0412] 표 16에 나타낸 바와 같이, 항-CD20 Fc 작제물은 ADCC 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하였다.

표 16

[0413]

ADCC 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하는 항-CD20 Fc 작제물의 효능				
작제물[1]	**n**	**EC50 (nM)**		
		범위	**평균**	**SD**
IgG1 항체, 푸코실화	6	0.039-0.15	0.08	0.04
S3L-AA2-OBI 작제물 45 (항-CD20)	1	0.055	0.055	해당 없음
S3L-0AA2-OBI 작제물 46 (항-CD20)	1	0.09	0.09	해당 없음
S3L-0A22-OBI2 작제물 47 (항-CD20)	1	0.043	0.043	해당 없음

[0414] [1]달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0415] **실시예 15. 항-PD-L1 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성화**

[0416] *ADCC 리포터 검정*

[0417] ADCC 리포터 검정을 개발하여 항-PD-L1 단클론 항체인 아벨루맙(Bavencio)에 비해 항-PD-L1 Fc 작제물이 FcγRIIa 신호전달을 활성화하여, ADCC 활성을 강화하는 정도를 시험하였다. 아벨루맙의 Fab 서열(VL+CL, VH+CH1)을 갖는 항-PD-L1 Fc 작제물 45, 46, 및 47을 실시예 4, 5, 및 6에서 기재된 바와 같이 생산하였다. 각각의 항-PD-L1 Fc 작제물, 및 푸코실화 및 탈푸코실화 아벨루맙 단클론 항체를 다음과 같이 수행한 ADCC 리포터 검정에서 시험하였다:

[0418] 표적 HEK-PD-L1 세포(1.25 x 10^4개의 세포/웰) 및 효과기 Jurkat/FcγRIIa-H 세포(Promega)(7.45 x 10^4개의 세포/웰)을 4% 저 IgG 혈청이 보충된 RPMI 1640 배지(Promega)에 재현탁하고 연속 희석된 항-PD-L1 Fc 작제물을 갖는 96-웰 플레이트에 접종하였다. 5% CO2에서 37℃에서 6시간 동안 배양한 후, PHERAstar FS 발광 측정기(BMG LABTECH)를 사용하여 제조업체의 프로토콜에 따라 Bio-Glo 루시퍼라제 분석 시약(Promega)을 사용하여 발광을 측정하였다.

[0419] 표 17에 도시된 바와 같이, 항-PD-L1 Fc 작제물 중 일부는 ADCC 리포터 검정에서 FcγRIIIa 신호전달을 유도하였다. 이 분석을 사용하여 Fc 작제물 44, 45, 및 47, 및 탈푸코실화 단클론 항체의 FcγRIIIa 신호전달의 유도를 결정할 수 없었다.

표 17

[0420]

ADCC 리포터 검정에서 FcγRIIa 신호전달을 유도하는 항-PD-L1 Fc 작제물의 효능				
작제물 번호[1]	**n**	**EC50 (nM)**		
		범위	**평균**	**SD**

IgG1 항체, 푸코실화	5	0.037 - 0.056	0.049	0.008
IgG1 항체, 탈푸코실화	1	결정되지 않음[2]	결정되지 않음[2]	해당 없음
S3L-AA2-AVE 작제물 45 (항-PD-L1)	1	결정되지 않음[2]	결정되지 않음[2]	해당 없음
S3L-AA2-2AVE 작제물 46 (항-PD-L1)	1	0.029	0.029	해당 없음
S3L-A22-2AVE 작제물 47 (항-PD-L1)	1	결정되지 않음[2]	결정되지 않음[2]	해당 없음

[0421] [1]달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0422] [2]데이터를 4-파라미터 로지스틱(4PL) 곡선에 신뢰할 수 있게 피팅할 수 없었다.

[0423] **실시예 16: 대안적인 비대칭 분지형 Fc-항원 결합 도메인 작제물**

[0424] 2개의 Fc 작제물(도 8 및 도 9)은 2세트의 이종이량체화 도메인 돌연변이를 사용해 3개의 상이한 폴리펩티드로부터 조립하였고, 각각 3개의 Fc 도메인을 갖는다. 2개의 작제물 모두는 폴리펩티드 사슬의 비대칭 배열을 사용해 Fc 도메인의 대칭 분포를 갖도록 분지한 Fc 작제물이며, 작제물 상에서 비대칭으로 분포된 단일 항-CD20 도메인을 각각 갖는다. 도 18 및 도 19는 도 8 및 9의 작제물 각각에 대한 대안을 도시하며, 여기서 정전기 스티어링 돌연변이와 조합으로 노브-인투-홀 돌연변이를 갖는 Fc 도메인(들) 및 정전기 스티어링 돌연변이만을 갖는 Fc 도메인(들)의 상대 위치가 서로 바뀐다. 도 20 및 도 21은 폴리펩티드의 서열을 제시한다.

[0425] **다른 구현예**

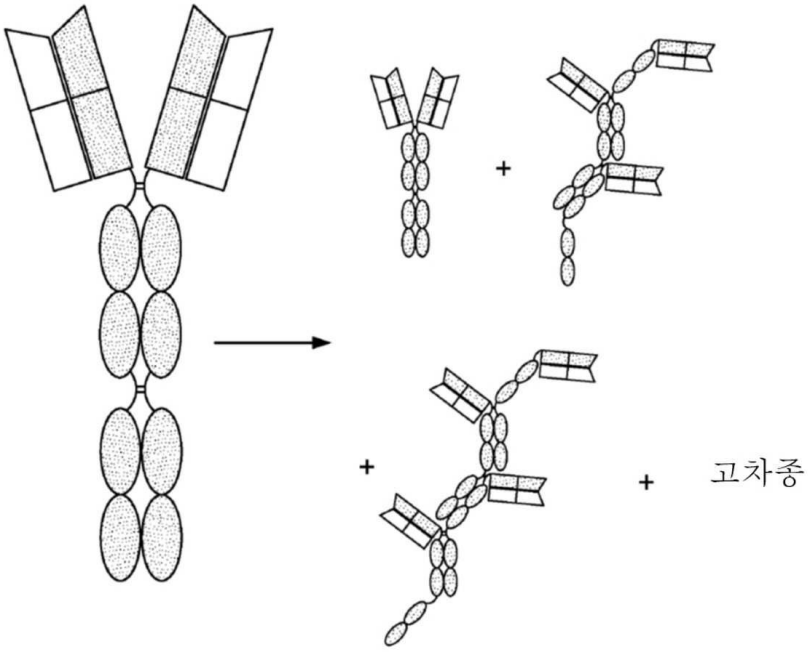
[0426] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 각각의 독립적인 간행물 도는 특허 출원이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로서 포함되는 것으로 나타내어진 것처럼 그와 같은 정도로 본원에 참조로서 포함된다.

[0427] 본 개시는 이의 구체적 구현예와 관련하여 기술되어 있지만, 추가의 변형이 가능하고 본 출원은 일반적으로 본 개시의 원리를 따르고 본 개시가 관련된 분야에 공지되거나 통상적인 관행에 속하고 상기 기술된 본질적 특징에 적용될 수 있는 본 개시로부터의 이러한 변경을 포함하는 본 개시의 임의의 변형, 사용 또는 응용을 포함하도록 의도되며, 청구항의 범주를 따르는 것으로 이해될 것이다.

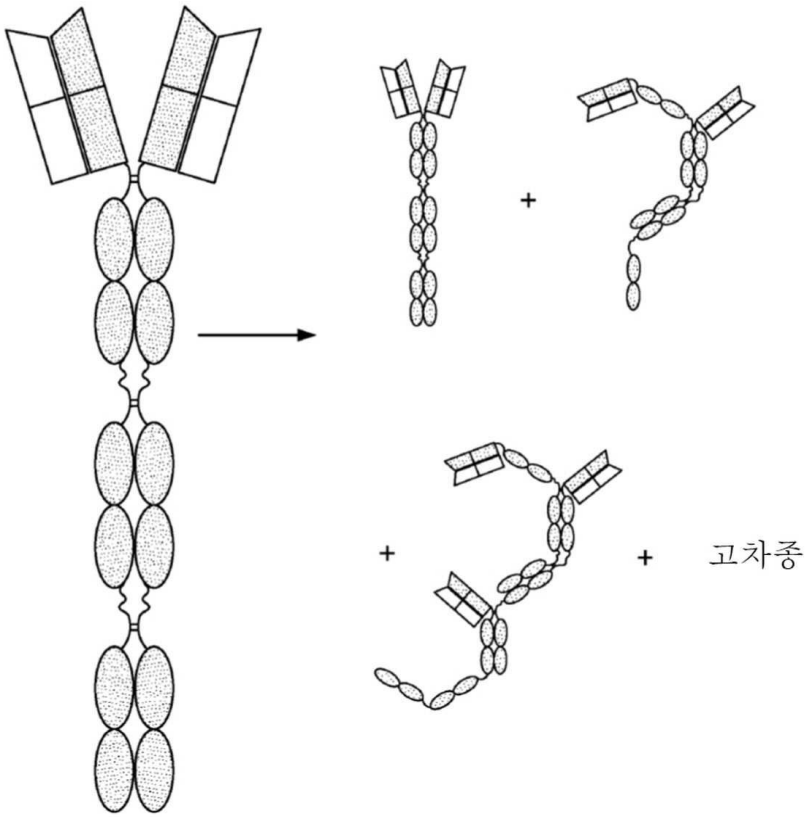
[0428] 다른 구현예는 청구 범위 내에 포함된다.

도면

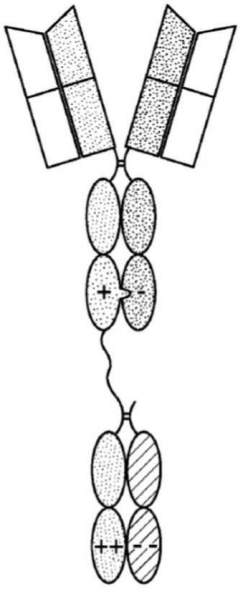
도면1



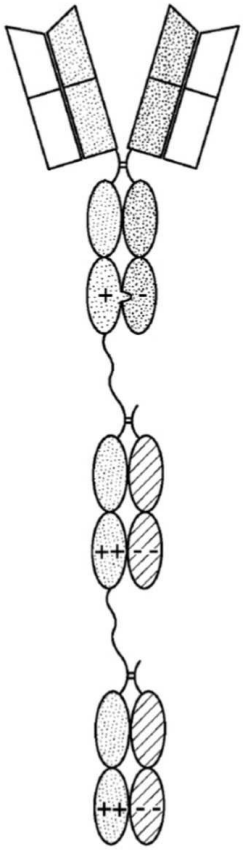
도면2



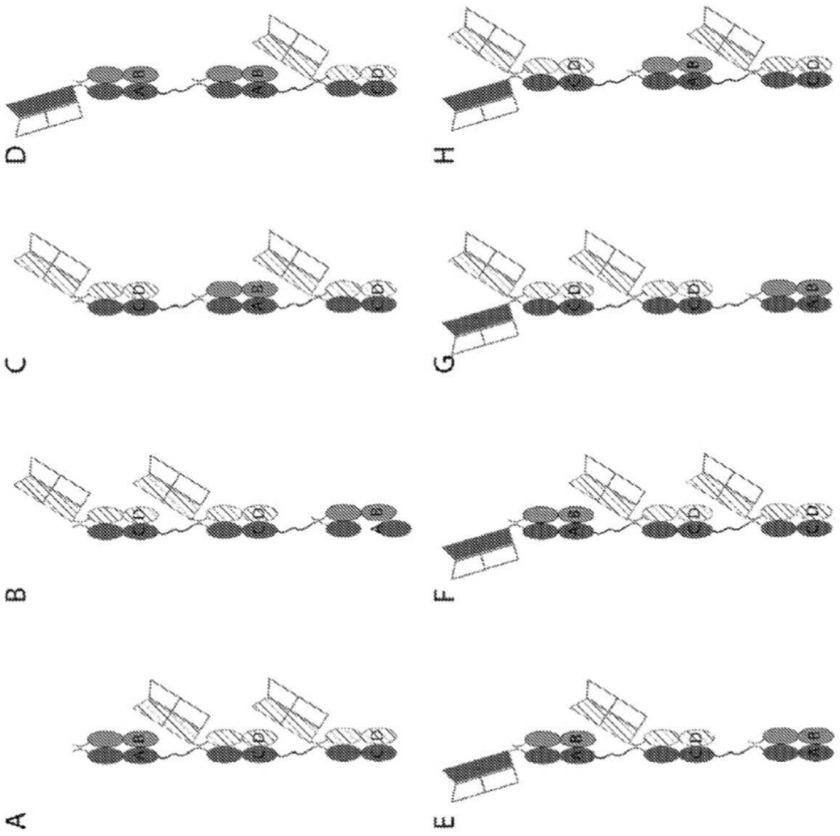
도면3a



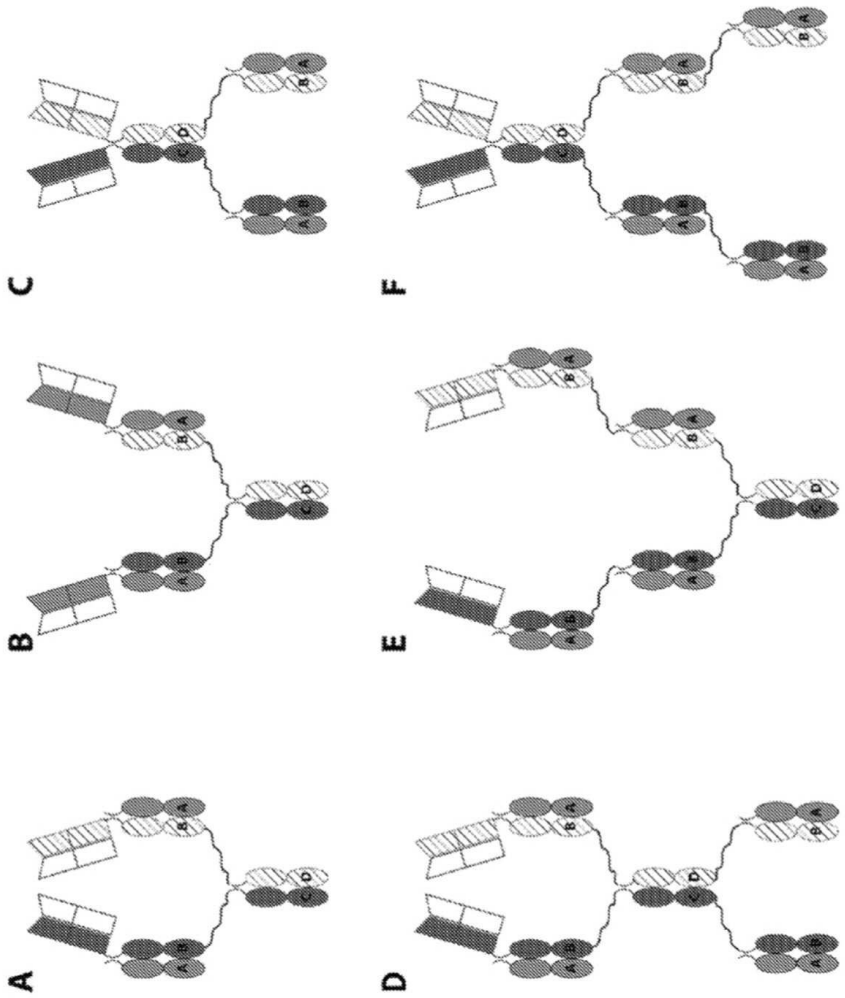
도면3b



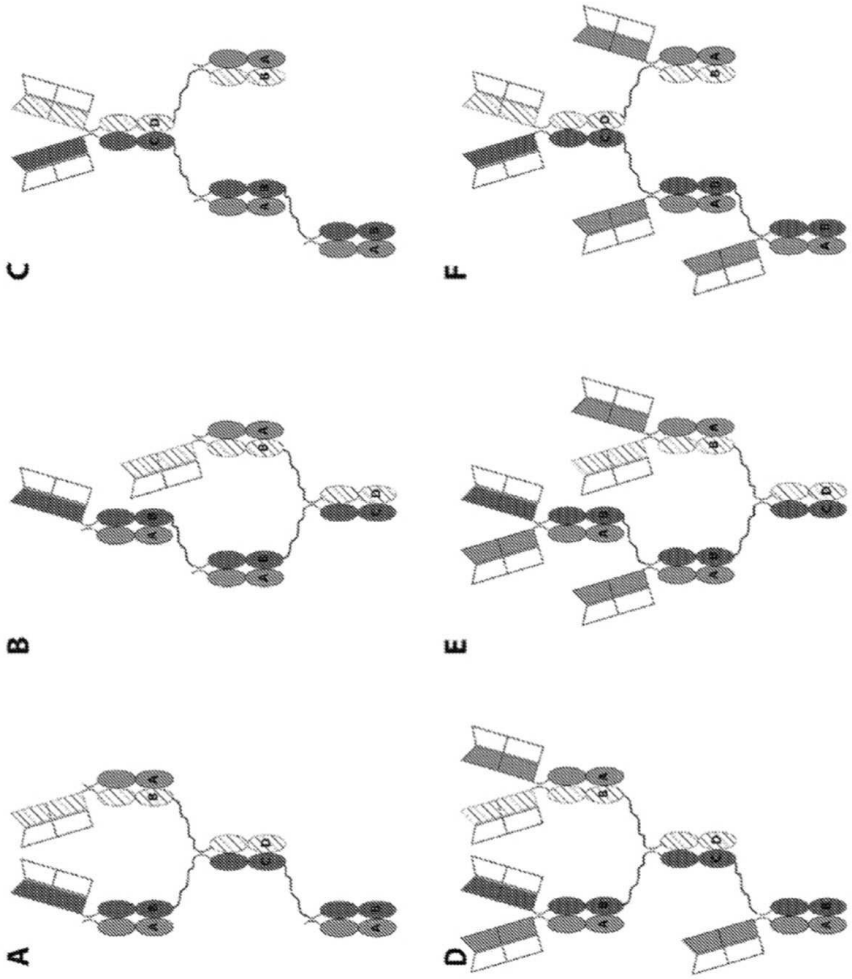
도면4



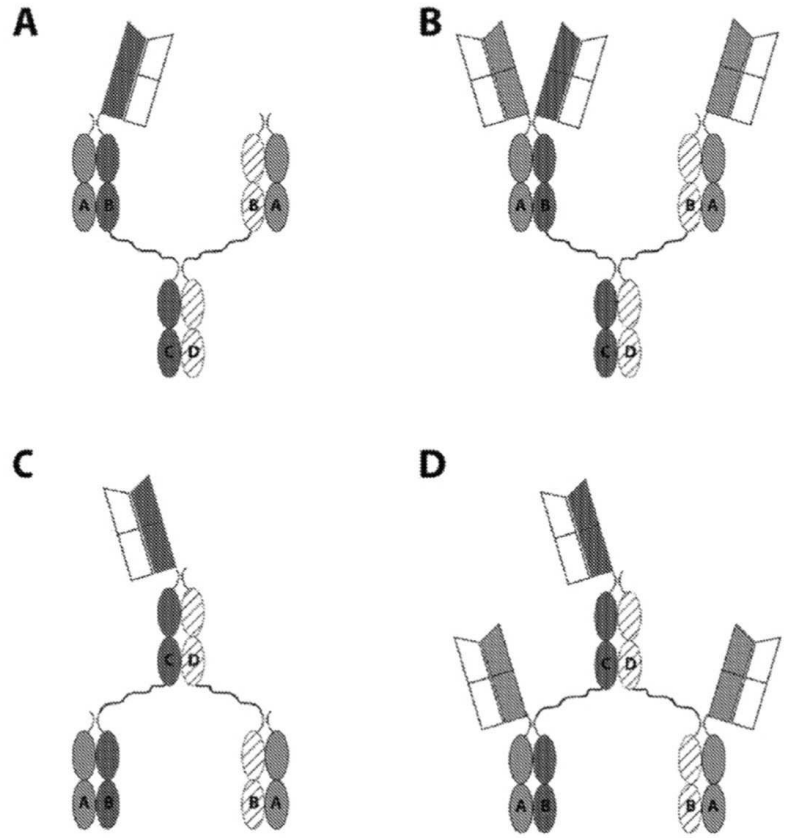
도면5



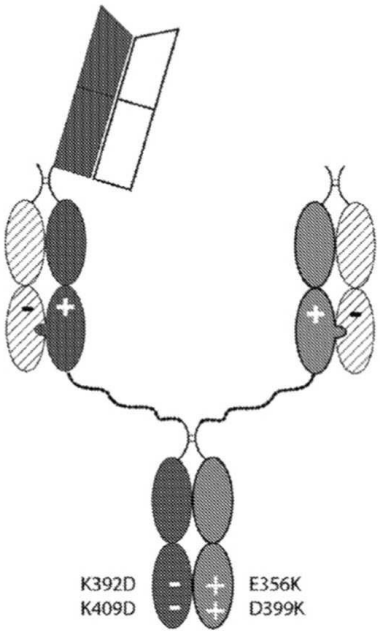
도면6



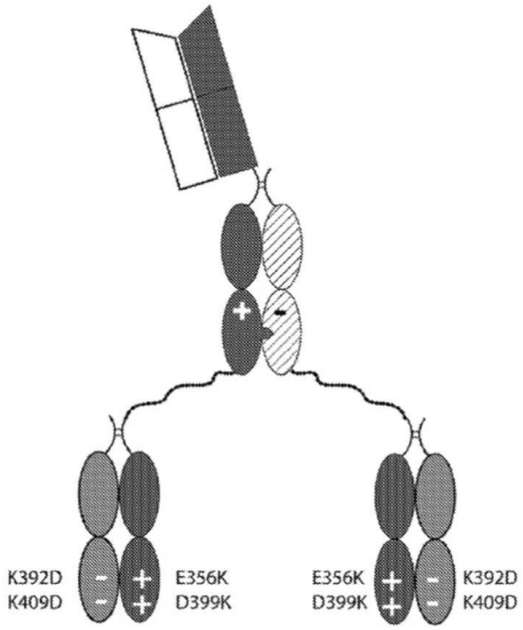
도면7



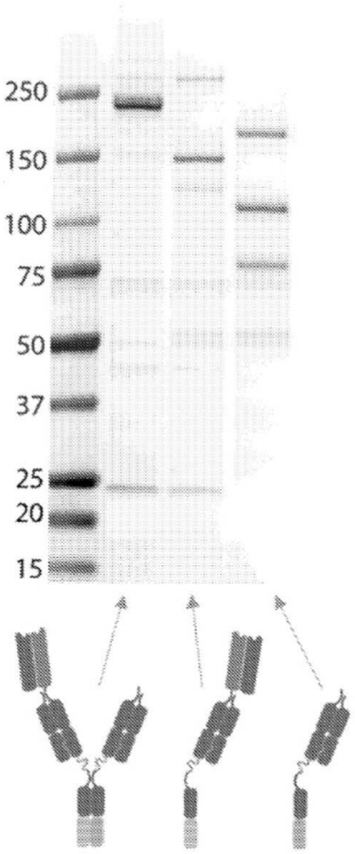
도면8



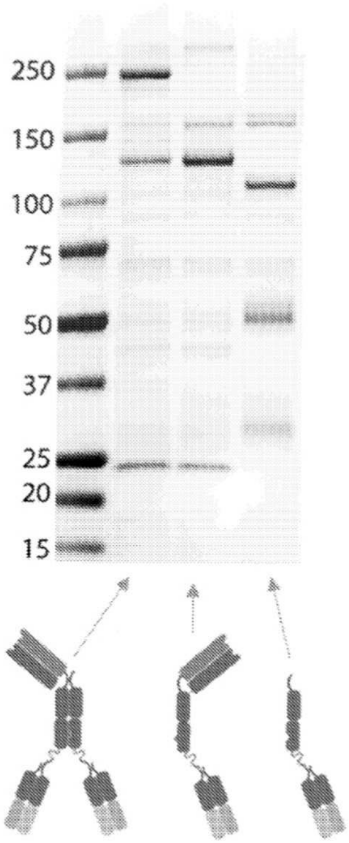
도면9


K392D
K409D
E356K
D399K
E356K
D399K
K392D
K409D

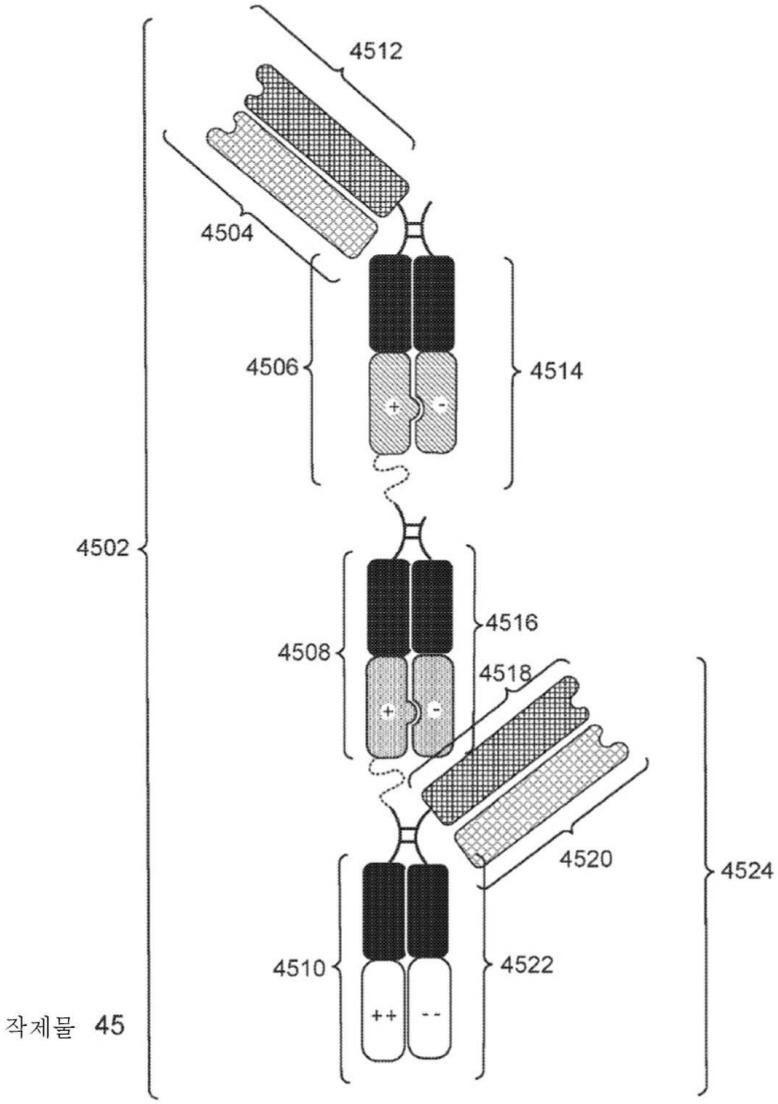
도면10


250
150
100
75
50
37
25
20
15

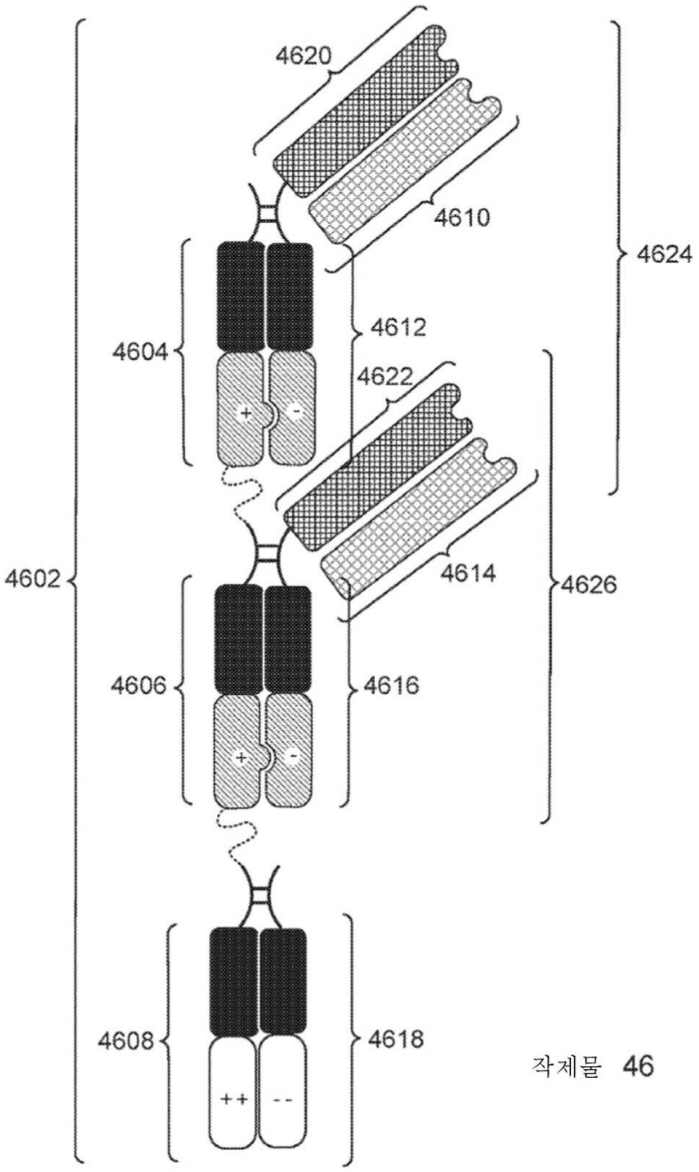
도면11



도면12

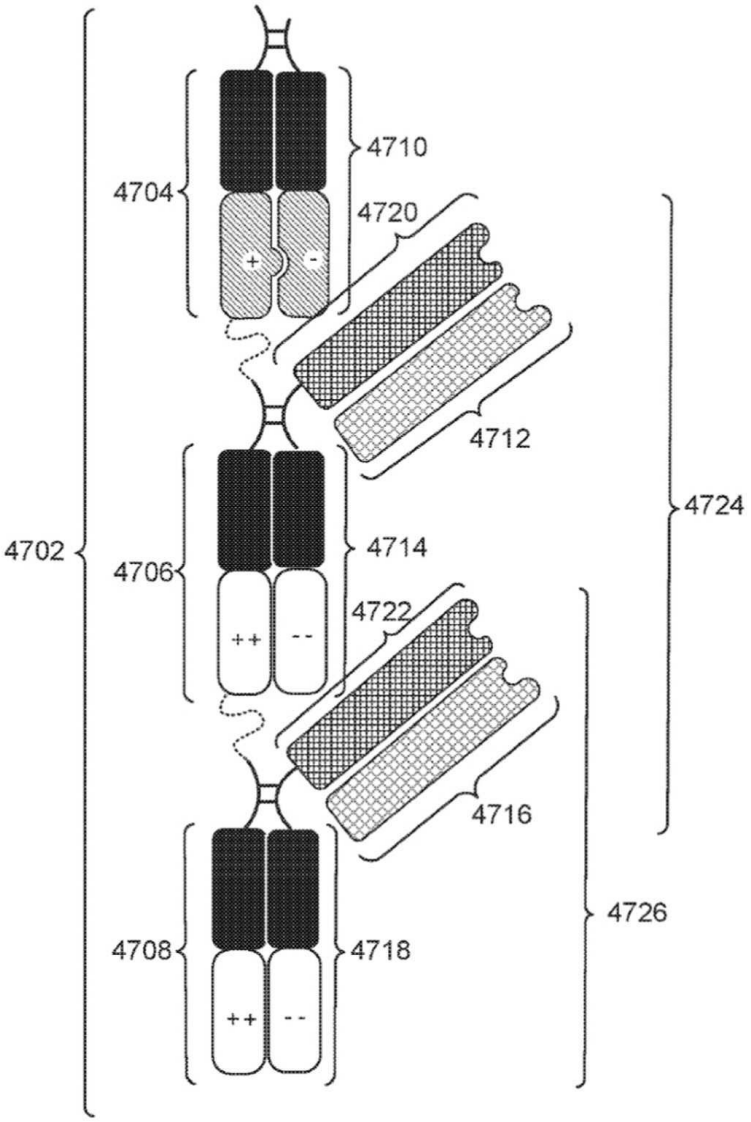

4512
4504
4506
4514
4502
4516
4508
4518
4520
4524
4510
4522
++
--
작제물 45

도면13


4620
4610
4624
4612
4604
4622
4602
4614
4626
4606
4616
4608
4618
++
--

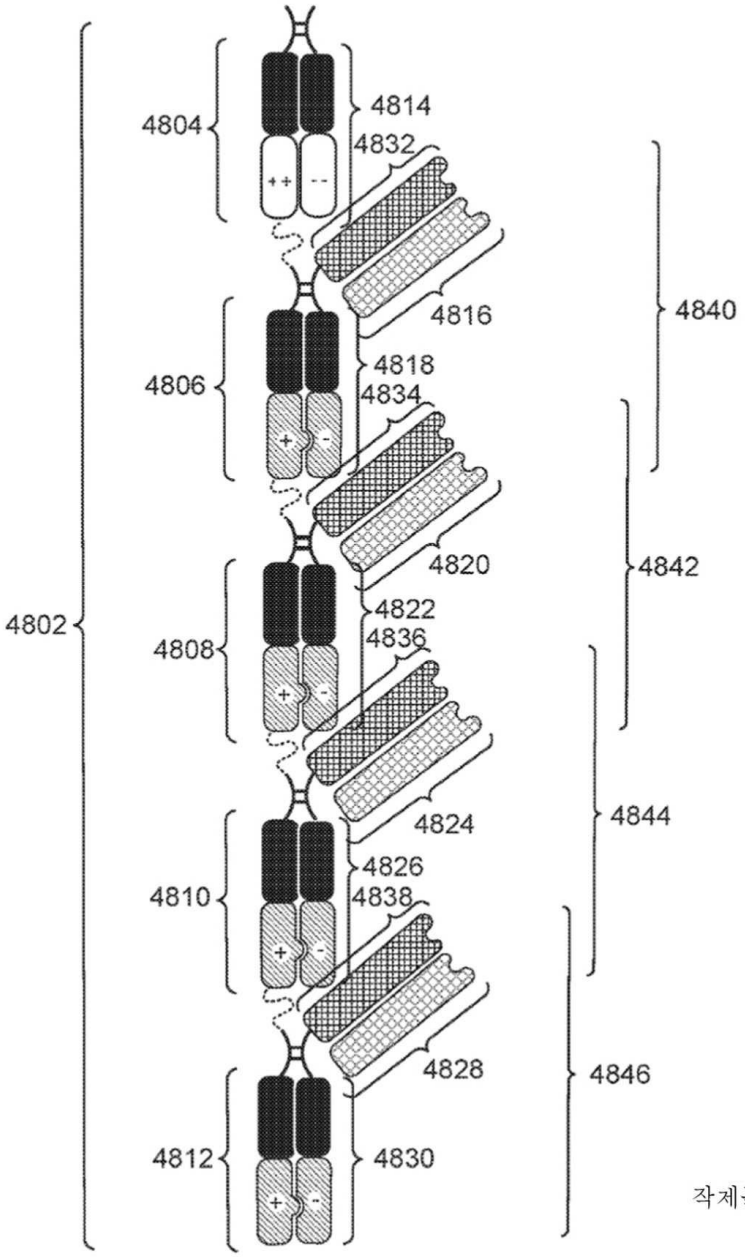
작제물 46

도면14


4710
4704
4720
+
-
4712
4724
4702
4714
4706
++
--
4722
4716
4726
4708
4718
++
--

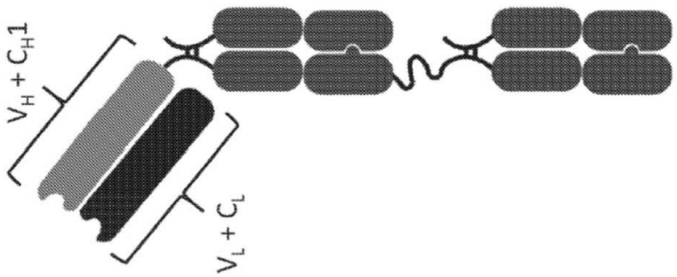
작제물 47

도면15

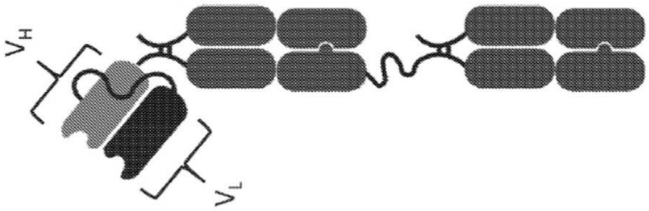


작제물 48

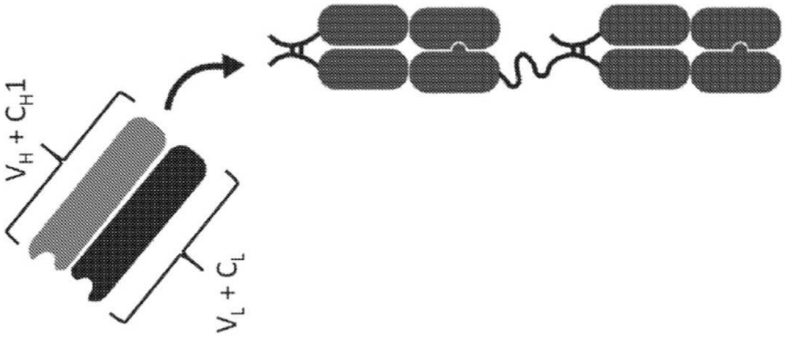
도면16a



도면16b



도면16c



도면17a

216 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280

281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344

(서열번호 43)

345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK 409

410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

도면17b

(서열번호 45)

221 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280

281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344

345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK 409

410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446

도면17c

(서열번호 47)

216 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280

281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344

345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK 409

410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446

도면17d

221 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280

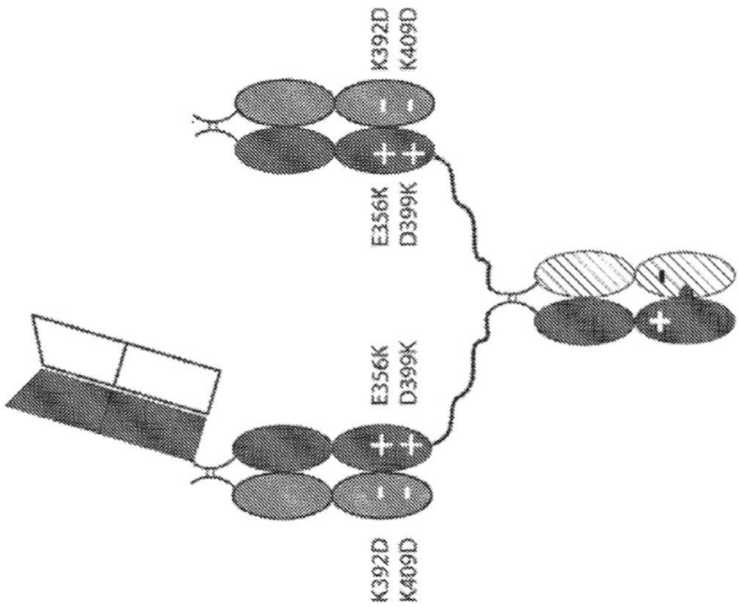
281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344

345 EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK 409

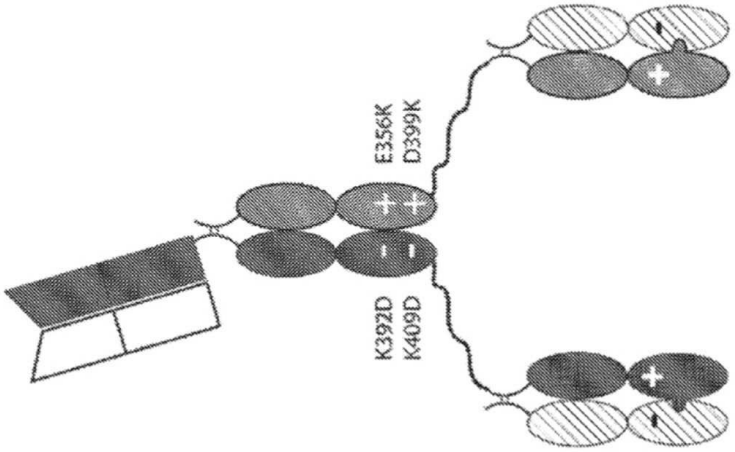
410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

(서열번호 42)

도면18


K392D
K409D
E356K
D399K
E356K
D399K
K392D
K409D

도면19


E356K
D399K
K392D
K409D

도면20

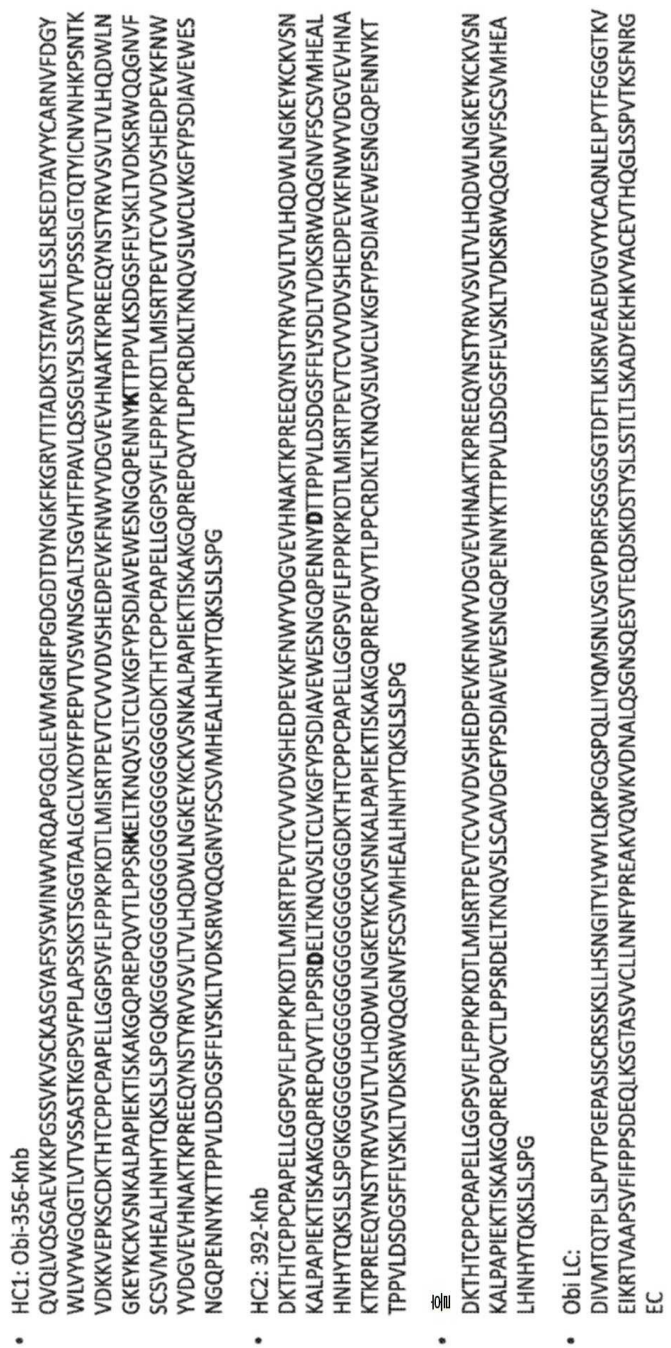
- HC1: Obi-356-Knb
  QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVY
  WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK
  SCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
  LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ
  KSLSLSPGQKGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
  NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY
  SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

- HC2: 356-hoi
  DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
  APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
  LSLSPGQKGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS
  TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK
  LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

- SC1-392
  DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
  APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK
  SLSLSPG

- Obi LC:
  DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKR
  TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면21


• HC1: Obi-356-Knb
QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGY
WLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK
VDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGQKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
• HC2: 392-Knb
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
• 항체
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG
• Obi LC:
DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG
EC

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC.

<120> COMPOSITIONS AND METHODS RELATED TO ENGINEERED FC-ANTIGEN BINDING DOMAIN CONSTRUCTS

<130> 14131-0183WO1

<140> PCT/US2019/041492

<141> 2019-07-11

<150> 62/696,708

<151> 2018-07-11

<160> 327

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 2

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 3

Ser Gly Gly Gly
1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 4

Gly Ser Gly Ser

1

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 6

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 8

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 9

Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 10

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 11

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 12

<211

> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 12

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 13

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 14

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly
20

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 17

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 18

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly

20

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 19

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 22

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

<210> 23

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly

20

<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 27

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 28

Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly

1 5 10

<210> 29

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 29

Ser Ala Cys Tyr Cys Glu Leu Ser

1 5

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 30

Arg Ser Ile Ala Thr

1 5

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 31

Arg Pro Ala Cys Lys Ile Pro Asn Asp Leu Lys Gln Lys Val Met Asn

1 5 10 15

His

<210> 32

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 32

Gly Gly Ser Ala Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser

1 5 10 15

Gly Ala Ser Gly Thr Gly Thr Ala Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ser Gly

20 25 30

Thr Gly Ser Gly

35

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 33

Ala Ala Ala Asn Ser Ser Ile Asp Leu Ile Ser Val Pro Val Asp Ser

1 5 10 15

Arg

<210> 34

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 34

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly Ser

20 25 30

Gly Gly Gly Ser

35

<210> 35

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 35

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 36

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Ser

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:

Albumin binding peptide

<400> 37

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp

1 5 10

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

6xHis tag

<400> 38

His His His His His His

1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 39

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 40

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 41

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 42

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 43

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

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 Asp Glu Leu 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> 44

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val

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

<210> 45
<211> 226
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 45

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

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

100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly

225

<210> 46

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 46

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

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

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

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 47
<211> 231
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 47

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 Asp Glu Leu 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
225 230

<210> 48

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 48

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly

225

<210> 49

<211> 216

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 49

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

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

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

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

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Lys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 50

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly Lys
225

<210> 51
<211> 227
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 51
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

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

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 52

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly

225

<210> 53

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 54

<400> 54

000

<210> 55

<400> 55

000

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<400> 60

000

<210> 61

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 61

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

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

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ala Gln Asn

85 90 95

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly 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> 62

<400> 62

000

<210> 63

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly

225

<210> 64

<400> 64

000

<210> 65

<400> 65

000

<210> 66

<400> 66

000

<210> 67

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 67

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 Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Cys Ala Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 68

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 68

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

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

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr 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 Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Ser Cys Ala Val Asp 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 Val 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

<210> 69

<400> 69

000

<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 76

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly

1 5

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 77

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 78

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 78

Gly Phe Ile Phe Ser Asn Tyr Gly

1 5

<210> 79

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 79

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ser Trp

1 5

<210> 80

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400> 80

Gly Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser Trp
1 5
<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400> 81
Gly Arg Thr Phe Thr Ser Tyr Asn Met His
1 5 10
<210> 82
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400> 82
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Asn
1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<400> 83
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp
1 5
<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 84

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Asn

1 5

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 85

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Ala

1 5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 86

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp

1 5

<210> 87

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 87

Gly Phe Lys Phe Ser Gly Tyr Gly

1 5

<210> 88

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 88

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Phe Tyr

1 5

<210> 89

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 89

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ala Trp

1 5

<210> 90

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 90

Gly Tyr Ile Phe Thr Ala Tyr Thr

1 5

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 91

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Thr

1 5

<210> 92

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 92

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr

1 5

<210> 93

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 93

Gly Tyr Thr Phe Arg Ser Ser Tyr

1 5

<210> 94

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 94

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Trp

1 5

<210> 95

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 95

Gly Phe Ala Phe Ser His Tyr Ala

1 5

<210> 96

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 96

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Glu

1 5

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 97

Gly Gly Thr Phe Ser Phe Tyr Ala

1 5

<210> 98

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 98

Gly Phe Ser Leu Ser Lys Phe Gly

1 5

<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 99

Gly Phe Thr Phe Lys Asn Tyr Ala

1 5

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 100

Gly Phe Asp Phe Ser Arg Tyr Trp

1 5

<210> 101

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 101

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Tyr Ala

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 102

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ile

1 5

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 103

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 104

Gly Tyr Thr Phe Leu Asn Cys Pro Ile

1 5

<210> 105

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 105

Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr Tyr Met Gln

1 5 10

<210> 106

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 106

Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile
1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 107

Ile Asn Ala Ser Gly Thr Arg Thr
1 5

<210> 108

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 108

Ile Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Ser
1 5

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 109

Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr
1 5

<210> 110

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 110

Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr

1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 111

Ala Ile Tyr Pro Leu Thr Gly Asp Thr

1 5

<210> 112

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 112

Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr

1 5

<210> 113

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 113

Ile Asn Pro Arg Asn Asp Tyr Thr

1 5

<210> 114

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 114

Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Gly Thr

1 5

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 115

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr

1 5

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 116

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys

1 5

<210> 117

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 117

Ile Arg Asp Lys Ala Lys Gly Tyr Thr Thr

1 5 10

<210> 118

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 118

Ile Arg Ser Lys Ala Ser Asn His Ala Thr

1 5 10

<210> 119

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 119

Ile Arg Ser Ala Asn Asn His Ala Pro Thr

1 5 10

<210> 120

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 120

Ile Lys Pro Asn Asn Gly Leu Ala

1 5

<210> 121

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 121

Ile Ser Tyr Asp Gly Asn Asn Lys

1 5

<210> 122

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 122

Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr

1 5

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 123

Ile Tyr Ala Gly Thr Gly Ser Pro

1 5

<210> 124

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 124

Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Asn Thr

1 5

<210> 125

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 125

Ile Ser Ser Gly Gly Ser Gly Thr

1 5

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 126

Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr

1 5

<210> 127

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 127

Phe Ile Pro Ile Phe Gly Ala Ala

1 5

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 128

Ile Trp Gly Asp Gly Ser Thr

1 5

<210> 129

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 129

Ile Asp Pro Tyr Tyr Gly Asp Thr

1 5

<210> 130

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 130

Ile Ser Tyr Asp Gly Arg Asn Ile

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 131

Ile Asn Pro Asp Ser Ser Thr Ile

1 5

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 132

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Phe Thr

1 5

<210> 133

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 133

Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr

1 5

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 134

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

1 5 10 15

Asp

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 135

Gly Trp Met Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn

1 5 10

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 136

Ile Gly Ser Ser Gly Gly Val Thr Asn

1 5

<210> 137

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 137

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 138

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 138

Ala Arg Gly Lys Gly Asn Thr His Lys Pro Tyr Gly Tyr Val Arg Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Val

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 139

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

1 5 10

<210> 140

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 140

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

1 5 10

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 141

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

1 5 10

<210> 142

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 142

Ala Arg Ser Thr Tyr Val Gly Gly Asp Trp Gln Phe Asp Val

1 5 10

<210> 143

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 143

Cys Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val

1 5 10 15

<210> 144

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 144

Ala Arg Tyr Asp Tyr Asn Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 145

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 145

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

1 5 10

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 146

Ala Arg Arg Asp Ile Thr Thr Phe Tyr

1 5

<210> 147

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 147

Ala Arg Ser Val Gly Pro Phe Asp Ser

1 5

<210> 148

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 148

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

1 5 10 15

<210> 149

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 149

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 150

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 150

Ala Arg Gln Met Gly Tyr Trp His Phe Asp Leu Trp

1 5 10

<210> 151

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 151

Ala Arg Glu Gly His Thr Ala Ala Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 152

Thr Arg Trp Arg Arg Phe Phe Asp Ser

1 5

<210> 153

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 153

Thr Arg Asp Ser Thr Ala Thr His

1 5

<210> 154

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 154

Ala Arg Ser Glu Ile Thr Thr Glu Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 155

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 155

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 156

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 156

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 157

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 157

Ala Arg His Arg Asp Tyr Tyr Ser Asn Ser Leu Thr Tyr

1 5 10

<210> 158

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 158

Ala Arg Gly Gly Tyr Tyr Glu Asp Phe Asp Ser

1 5 10

<210> 159

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 159

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

1 5 10

<210> 160

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 160

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr

1 5

<210> 161

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 161

Ala Arg Ile Pro Ser Gly Ser Tyr Tyr Tyr Asp Tyr Asp Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 162

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 162

Val Lys Pro Gly Gly Asp Tyr

1 5

<210> 163

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 163

Val Lys Gly Gly Tyr Tyr Gly His Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 164

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 164

Ala Arg Pro Val Arg Ser Arg Trp Leu Gln Leu Gly Leu Glu Asp Ala

1 5 10 15

Phe His Ile

<210> 165

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 165

Ala Arg Pro Asp Gly Asn Tyr Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 166

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 166

Ala Lys Asp Arg Leu Val Ala Pro Gly Thr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 167

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 167

Ala Arg Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr
1 5 10

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 168

Ala Ile Thr Thr Thr Pro Phe Asp Phe

1 5

<210> 169

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 169

Ala Arg Tyr Phe Phe Gly Ser Ser Pro Asn Trp Tyr Phe Asp

1 5 10

<210> 170

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 170

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

1 5 10

<210> 171

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 171

Gln Asn Val Asp Thr Asn

1 5

<210> 172

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 172

Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
1 5

<210> 173

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 173

Arg Asn Ile Val His Ile Asn Gly Asp Thr Tyr
1 5 10

<210> 174

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 174

Glu Ser Val Asp Thr Phe Gly Ile Ser Phe
1 5 10

<210> 175

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 175

Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr
1 5 10

<210> 176

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 176

Ser Ser Val Pro Tyr

1 5

<210> 177

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 177

Ser Ser Val Ser Tyr

1 5

<210> 178

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 178

Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ala Asn His Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 179

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 179

Glu Asn Val Tyr Ser Tyr

1 5

<210> 180

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 180

Gln Ser Val Ser Ser Tyr

1 5

<210> 181

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 181

Gln Asp Val Ser Thr Val

1 5

<210> 182

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 182

Gln Asn Ile Asp Lys Tyr

1 5

<210> 183

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 183

Gln Ser Val Ile Asn Asp

1 5

<210> 184

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 184

Glu Ser Val Asp Ser Tyr Ala Asn Ser Phe

1 5 10

<210> 185

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 185

Gln Ser Val Gly Ser Ser Tyr

1 5

<210> 186

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 186

Gln Asp Val Asn Thr Ala

1 5

<210> 187

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 187

Gln Ser Val Leu Asn Ser Gly Asn Gln Lys Asn Tyr
1 5 10

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 188

Gln Gly Ile Ile Ser Tyr
1 5

<210> 189

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 189

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 190

Gln Ser Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 191

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 191

Ser Ser Ile Ser Tyr
1 5

<210> 192

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 192

Gln Asp Ile Gly Ser Ser
1 5

<210> 193

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 193

Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
1 5

<210> 194

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 194

Gln Asp Val Gly Ile Ala

1 5

<210> 195

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 195

Gln Gly Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 196

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 196

Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 197

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 197

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asn Asn Leu His

1 5 10

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 198

Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala Trp

1 5

<210> 199

<

211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 199

Ser Leu Ser Asn Ile Gly Leu Asn

1 5

<210> 200

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 200

Tyr Ser Gln Ser Ile Ser

1 5

<210> 201

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 201

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 202

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 202

Leu Gln Ile Tyr Asn Met Pro Ile Thr

1 5

<210> 203

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 203

Phe Gln Gly Ser Leu Leu Pro Trp Thr

1 5

<210> 204

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 204

Gln Gln Ser Lys Glu Val Pro Phe Thr

1 5

<210> 205

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 205

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 206

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 206

Gln Gln Trp Leu Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 207

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 207

Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 208

Gln Gln Trp Thr Phe Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 209

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 209

His Gln Tyr Leu Ser Ser

1 5

<210> 210

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 210

Gln His His Ser Asp Asn Pro Trp Thr

1 5

<210> 211

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 211

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 212

Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 213

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 213

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Leu Thr
1 5 10

<210> 214

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 214

Leu Gln His Ile Ser Arg Pro Arg Thr
1 5

<210> 215

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 215

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
1 5

<210> 216

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 216

Gln Gln Asp Thr Ser Pro Pro
1 5

<210> 217

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 217

Gln Gln Ser Lys Glu Asp Pro Leu Thr

1 5

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 218

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 219

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 219

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 220

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 220

Gln Ser Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 221

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 221

Gly Gln Tyr Ala Asn Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 222

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 222

His Gln Tyr Ser Lys Leu Pro

1 5

<210> 223

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 223

Ser Gln Asn Thr His Val Pro Pro Thr

1 5

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 224

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Met Tyr Thr
1 5

<210> 225

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 225

His Gln Arg Asp Ser Tyr Pro Trp Thr
1 5

<210> 226

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 226

Leu Gln Tyr Val Ser Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 227

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 227

Gln Gln Tyr Tyr Asn Ser Pro Pro Thr
1 5

<210> 228

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 228

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 229

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 229

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 230

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Arg Val
1 5 10

<210> 231

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 231

Gln Gln Ser Asn Thr Trp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 232

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 232

Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr

1 5 10

<210> 233

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 233

Ala Ala Trp Asp Asp Ser Pro Pro Gly

1 5

<210> 234

<400> 234

000

<210> 235

<400> 235

000

<210> 236

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 236

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly

225

<210> 237

<400> 237

000

<210> 238

<400> 238

000

<210> 239

<211> 943

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 239

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 Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

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

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

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

Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
465 470 475 480

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
485 490 495

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
500 505 510

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
515 520 525

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
530 535 540

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
545 550 555 560

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
565 570 575

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
580 585 590

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr
595 600 605

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
610 615 620

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
625 630 635 640

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
645 650 655

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

660 665 670

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

675 680 685

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

690 695 700

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His

705 710 715 720

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

725 730 735

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

740 745 750

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

755 760 765

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

770 775 780

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

785 790 795 800

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

805 810 815

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

820 825 830

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

835 840 845

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

850 855 860

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

865 870 875 880

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

885 890 895

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

900 905 910

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
915 920 925
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln
930 935 940

<210> 240
<211> 944
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 240
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
Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr 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 Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

165 170 175

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

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp 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 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
450 455 460
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
465 470 475 480
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
485 490 495

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
500 505 510
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
515 520 525
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
530 535 540
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
545 550 555 560

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
565 570 575
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
580 585 590
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu
595 600 605
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
610 615 620

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
625 630 635 640
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
645 650 655
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

660 665 670

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

675 680 685

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

690 695 700

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr

705 710 715 720

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser

725 730 735

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

740 745 750

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

755 760 765

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

770 775 780

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

785 790 795 800

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

805 810 815

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

820 825 830

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

835 840 845

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

850 855 860

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

865 870 875 880

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys

885 890 895

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

900 905 910

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
915 920 925
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln
930 935 940

<210> 241
<211> 721
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 241
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

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

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

165 170 175

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

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

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

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly
465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys
485 490 495

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
500 505 510

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
515 520 525

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
530 535 540

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
545 550 555 560

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
565 570 575

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
580 585 590

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
595 600 605

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
610 615 620

Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
625 630 635 640

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

690 695 700

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

705 710 715 720

Gln

<210> 242

<400> 242

000

<210> 243

<211> 696

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 243

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

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

35 40 45

Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr 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 Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ile Glu

325 330 335

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

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp 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 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

450 455 460
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
465 470 475 480
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
485 490 495
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
500 505 510
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

515 520 525
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
530 535 540
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
545 550 555 560
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
565 570 575
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

580 585 590
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu

595 600 605

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

610 615 620

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

625 630 635 640

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

645 650 655

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

660 665 670

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

675 680 685

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

690 695

<210> 244

<400> 244

000

<210> 245

<400> 245

000

<210> 246

<400> 246

000

<210> 247

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 247

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 Ala Phe Ser Tyr Ser

20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Arg Val 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 Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 248

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 248

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

Ile Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Tyr Pro Ser Gly Gly Ile Thr Phe Tyr Ala Asp Thr 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 Ile Lys Leu Gly Thr Val Thr Thr Val Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

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

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

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Asp Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp 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

<210> 249
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 249
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 250

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 4-30 residues

<400> 250

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

<210> 251

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 4-20 residues

<400> 251

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly
20

<210> 252

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 8-30 residues

<400> 252

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

<210> 253

<211

> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 8-20 residues

<400> 253

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 254

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 12-20 residues

<400> 254

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 255

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 12-30 residues

<400> 255

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

<210> 256

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 256

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu

20

<210> 257

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 257

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

1 5 10 15

<210> 258

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 258

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu

<210> 259

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 259

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100 105

<210> 260

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 260

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 261

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 261

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser
20 25 30

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp 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 Ala 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 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 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> 262
<211> 451
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 262

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

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

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

Ala Asn Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Glu Gly Gly Trp Phe Gly Glu Leu Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

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

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

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

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

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly Lys
450

<210> 263

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 263

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 Pro Arg Gly Ala Thr Leu Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys

195 200 205

Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu

210 215 220

Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 264

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 264

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

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

165 170 175

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

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr 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 Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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> 265

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 265

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

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

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

Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn 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 Arg Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val
115

<210> 266

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 266

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 Val Ser Thr Ala

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

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> 267

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 267

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 Arg Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

Trp 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> 268

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 268

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Pro 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> 269
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 269
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Leu Ser Met Ser Thr Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Pro Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Val
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gly 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> 270

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 270

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 Leu Arg His Tyr Tyr Val
20 25 30

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

Gly 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 Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu
85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105

<210> 271

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 4-200 residues

<400> 271

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 272
<211> 180
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(180)
<223> This sequence may encompass 4-180 residues
<400> 272
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Gly Gly Gly Gly
180

<210> 273

<211> 160

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220

><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(160)

<223> This sequence may encompass 4-160 residues

<400> 273

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

<210> 274

<211> 140

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(140)

<223> This sequence may encompass 4-140 residues

<400> 274

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

<210> 275

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(40)

<223> This sequence may encompass 4-40 residues

<400> 275

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40

<210> 276

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(100)

<223> This sequence may encompass 4-100 residues

<400> 276

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly

100

<210> 277

<211> 90

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(90)

<223> This sequence may encompass 4-90 residues

<400> 277

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90

<210> 278

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(80)

<223> This sequence may encompass 4-80 residues

<400> 278

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

<210> 279

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(70)

<223> This sequence may encompass 4-70 residues

<400> 279

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70

<210> 280
<211> 60
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(60)
<223> This sequence may encompass 4-60 residues

<400> 280
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

<
210> 281
<211> 50
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(50)

<223> This sequence may encompass 4-50 residues

<400> 281

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly
50

<210> 282

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(19)

<223> This sequence may encompass 4-19 residues

<400> 282

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly

<210> 283

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(18)

<223> This sequence may encompass 4-18 residues

<400> 283

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly

<210> 284

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(17)

<223> This sequence may encompass 4-17 residues

<400> 284

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly

<210> 285

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(16)

<223> This sequence may encompass 4-16 residues

<400> 285

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

<210> 286

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(15)

<223> This sequence may encompass 4-15 residues

<400> 286

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

<210> 287

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(14)

<223> This sequence may encompass 4-14 residues

<400> 287

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 288

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(13)

<223> This sequence may encompass 4-13 residues

<400> 288

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 289

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(12)

<223> This sequence may encompass 4-12 residues

<400> 289

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 290

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(11)

<223> This sequence may encompass 4-11 residues

<400> 290

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 291

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(10)

<223> This sequence may encompass 4-10 residues

<400> 291

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 292

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(9)

<223> This sequence may encompass 4-9 residues

<400> 292

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 293

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(8)

<223> This sequence may encompass 4-8 residues

<400> 293

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 294

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(7)

<223> This sequence may encompass 4-7 residues

<400> 294

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 295

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(6)

<223> This sequence may encompass 4-6 residues

<400> 295

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 296

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> This sequence may encompass 4-5 residues

<400> 296

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 297

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 6-200 residues

<400> 297

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 298

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 8-200 residues

<400> 298

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 299

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 10-200 residues

<400> 299

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 300

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 12-200 residues

<400> 300

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 301

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 14-200 residues

<400> 301

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 302

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 16-200 residues

<400> 302

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 303
<211> 200
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 18-200 residues

<400> 303

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 304

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 20-200 residues

<400> 304

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 305

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 30-200 residues

<400> 305

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 306

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 40-200 residues

<400>

306

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 307

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 50-200 residues

<400> 307

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 308

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 60-200 residues

<400> 308

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 309

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 70-200 residues

<400> 309

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 310

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 80-200 residues

<400> 310

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 311

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 90-200 residues

<400> 311

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 312

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 100-200 residues

<400> 312

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 313

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 120-200 residues

<400> 313

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 314

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 140-200 residues

<400> 314

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 315
<211> 200
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(200)
<223> This sequence may encompass 160-200 residues
<400> 315
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 316

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 180-200 residues

<400> 316

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 317

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 190-200 residues

<400> 317

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 318

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 318

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

20

<210> 319

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 319

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Glu Gln Lys Leu Ile Ser

1 5 10 15

Glu Glu Asp Leu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

20 25 30

<210> 320

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 320

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp

1 5 10 15

Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

20 25

<210> 321

<211> 696

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 321

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 Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

485 490 495

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

500 505 510

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

515 520 525

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

530 535 540

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

545 550 555 560

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

565 570 575

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

580 585 590

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr

595 600 605

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

610 615 620

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

625 630 635 640

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

645 650 655

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

660 665 670

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

675 680 685

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln

690 695

<210> 322

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 322

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
245 250 255
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
260 265 270
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
275 280 285

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
290 295 300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
305 310 315 320
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
325 330 335
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
340 345 350

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

Asn Tyr Asp Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
420 425 430
Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
435 440 445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465 470

<210> 323

<211> 474

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

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

<400> 323

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

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

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

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

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

420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
435 440 445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
450 455 460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln
465 470

<210> 324
<211> 722
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 324

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

225 230 235 240

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

245 250 255

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

260 265 270

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

275 280 285

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

290 295 300

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

305 310 315 320

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

325 330 335

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

340 345 350

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

355 360 365

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu

370 375 380

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

385 390 395 400

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

405 410 415

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe

420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gln Lys Gly Gly Gly Gly Gly

465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

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

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

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

705 710 715 720

Gly Gln

<210> 325

<211> 696

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 325

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 Ala Phe Ser Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val 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 Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

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

435 440 445

Gln Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

450 455 460

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

465 470 475 480

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

485 490 495

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

500 505 510

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

515 520 525

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

530 535 540

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

545 550 555 560

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

565 570 575

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

580 585 590

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu
595 600 605
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

610 615 620
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
625 630 635 640
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
645 650 655
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
660 665 670
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

675 680 685
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
690 695

<210> 326
<211> 474
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 326
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

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

85 90 95

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

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

Pro Gly Gln Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
275 280 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
290 295 300
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305 310 315 320
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
325 330 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
340 345 350

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

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

<210> 327
<211> 473
<212>
PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<400> 327
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

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

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

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

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

290 295 300

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys
370 375 380
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
385 390 395 400
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
405 410 415
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
435 440 445
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
450 455 460
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465 470