

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0109436

(43) 공개일자 2022년08월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

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

A61P 31/20 (2006.01) C07K 14/555 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2878 (2013.01)

A61P 31/20 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2022-7022262

(22) 출원일자(국제) 2020년11월27일

심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2022년06월29일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/083745

(87) 국제공개번호 WO 2021/110562

국제공개일자 2021년06월10일

(30) 우선권주장

19306552.1 2019년12월03일

유럽특허청(EPO)(EP)

19306573.7 2019년12월04일

유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인

에보텍 인터내셔널 게엠베하

독일 함부르크 22419 에세너 보겐 7

사노피

프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54

(72) 발명자

알람, 앙투안

프랑스 리옹 69007 토니 가르니 40 아브뉴 에보텍

아이디 (리옹) 에스에이에스 내

(74) 대리인

특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 18 항

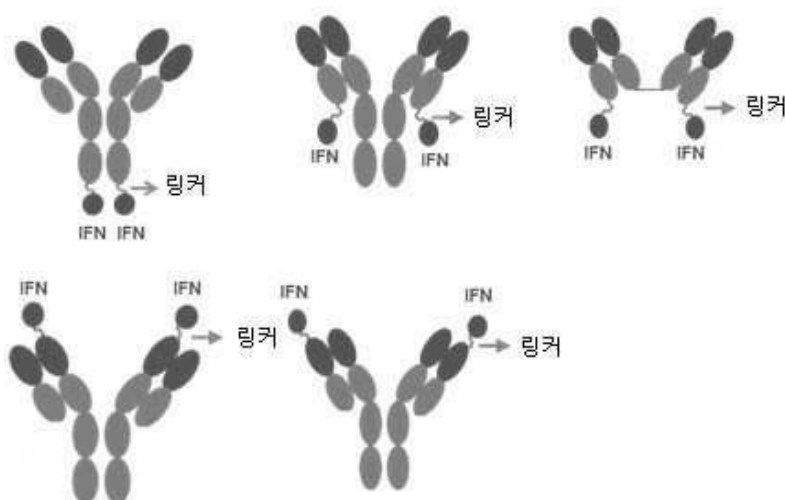
(54) 발명의 명칭 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 신규한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 뿐만 아니라 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산, 벡터 및 벡터 시스템에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터 및 벡터 시스템을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 신규한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은

(뒷면에 계속)

대표도 - 도1



예를 들어 바이러스 복제를 효과적으로 방해하여 HBV 바이러스 로딩을 감소시킨다는 점에서 현재의 기술 상태에 비해 유익한 개선을 제공한다. 따라서, 본 발명은 또한 예를 들어 대상체에서 B형 간염 바이러스(HBV) 감염의 치료 및/또는 HBV 감염의 하나 이상의 증상을 감소시키기 위한 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 및 조성물의 의학적 용도를 제공한다. 본 발명은 추가로 이러한 핵산, 벡터 및 벡터 시스템을 포함하는 숙주 세포 뿐만 아니라 상기 숙주 세포를 이용하여 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 제조하는 방법을 제공한다.

(52) CPC특허분류

C07K 14/555 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/55 (2013.01)

C07K 2319/00 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

- (I) 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편; 및
- (II) 인터페론(IFN) 또는 이의 기능성 단편을 포함하되, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은
- (a) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트(Kabat) 정의, 코티아(Chothia) 정의, AbM 정의 또는 CDR의 접촉 정의(contact definition)에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;
- (b) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의, 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;
- (c) SEQ ID NO: 56과 적어도 90% 동일한 상보성 결정 영역(CDR) CDRH1, SEQ ID NO: 57과 적어도 90% 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 적어도 90% 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 적어도 90% 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 적어도 90% 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 적어도 90% 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;
- (d) SEQ ID NO: 56과 동일한 CDRH1, SEQ ID NO: 57과 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;
- (e) SEQ ID NO: 51에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 V_L ; 및/또는 SEQ ID NO: 55에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 V_H ;
- (f) SEQ ID NO: 12에 기재된 아미노산 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 Fab 영역 중쇄; 또는
- (g) SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49 및 SEQ ID NO: 48로 구성된 군에서 선택된 서열 또는 이들과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 2

제1항에 있어서,

IFN 또는 이의 기능성 단편은 I형 IFN, II형 IFN 및 III형 IFN으로 구성된 군 또는 이들의 기능성 단편에서 선택되는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 3

제2항에 있어서,

I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편인 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 2a 또는 이의 기능성 단편이되, 바람직하게는 IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기

재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이되, 바람직하게는 IFN β 은 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합되되, 바람직하게는 IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합되는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 7

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합되되, 바람직하게는 IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합되는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,

작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 이의 기능성 단편은 링커를 통해 서로 융합되되, 바람직하게는 링커는 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 및 SEQ ID NO: 47로 구성된 군에서 선택된 서열을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 표 8, 특히 표 8A 또는 표 8B, 보다 상세하게는 표 8A에 개시된 서열 조합 중 하나를 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편인 인터페론-결합된 항원 결합 단백질.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산이되, 바람직하게는 핵산은 분비 신호 펩타이드를 추가로 인코딩하는 핵산.

청구항 12

제11항에 따른 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 13

(I) 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는

이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터; 또는

(II) 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함하는 벡터 시스템.

청구항 14

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 제11항에 따른 핵산, 제12항에 따른 벡터 또는 제13항에 따른 벡터 시스템을 포함하는 조성물, 바람직하게는 약학적 조성물.

청구항 15

제11항에 따른 핵산, 제12항에 따른 벡터 또는 제13항에 따른 벡터 시스템을 포함하는 숙주 세포.

청구항 16

제14항에 따른 숙주 세포를 배양하고, 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 회수하는 것을 포함하는 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제조 방법.

청구항 17

의약으로서 사용하기 위한 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 제11항에 따른 핵산, 제12항에 따른 벡터, 제13항에 따른 벡터 시스템 또는 제14항에 따른 조성물.

청구항 18

대상체에서 B형 간염 바이러스(HBV) 감염의 치료 및/또는 HBV 감염의 하나 이상의 증상을 감소시키는데 사용하기 위한 제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 제11항에 따른 핵산, 제12항에 따른 벡터, 제13항에 따른 벡터 시스템 또는 제14항에 따른 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 작용제 항 CD40 항체 CP870,893을 기반으로 한 신규한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 뿐만 아니라 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산, 벡터 및 벡터 시스템에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터 및 벡터 시스템을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 신규한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 예를 들어 바이러스 복제를 효과적으로 방해하여 HBV 바이러스 로딩을 감소시킨다는 점에서 현재의 기술 상태에 비해 유익한 개선을 제공한다. 따라서, 본 발명은 또한 예를 들어 대상체에서 B형 간염 바이러스(HBV) 감염의 치료 및/또는 HBV 감염의 하나 이상의 증상을 감소시키기 위한 이러한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 및 조성물의 의학적 용도를 제공한다. 본 발명은 추가로 이러한 핵산, 벡터 및 벡터 시스템을 포함하는 숙주 세포 뿐만 아니라 상기 숙주 세포를 이용하여 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 제조하는 방법을 제공한다.

배경 기술

[0002] HBV는 전 세계적으로 3억 명 이상의 사람들을 감염시키며 간 질환 및 간암의 일반적인 원인이다(Liang (2009) Hepatology 49:S13). HBV는 RNA 중간체(pre-genomic RNA, pgRNA)를 통해 복제되고 숙주 계통에 통합될 수 있는 레트로바이러스와 유사한 특이한 특징을 가진 작은 DNA 바이러스이다. HBV 복제 주기의 독특한 특징은 바이러스가 감염된 세포에서 지속되는 독특한 능력을 부여한다. HBV 감염은 급성(전격성 간부전 포함)에서 만성 간염, 간경변 및 간세포 암종에 이르는 광범위한 간질환을 유발한다. 급성 HBV 감염은 무증상이거나 증상이 있는 급성 간염과 함께 존재할 수 있다. HBV에 감염된 어린이의 90-95%와 성인의 5-10%는 바이러스를 제거할 수 없고 만성

적으로 감염된다. 만성적으로 감염된 많은 사람들은 장기적인 이환율이나 사망률이 거의 또는 전혀 없는 경증의 간질환을 가지고 있다. 만성 HBV 감염이 있는 다른 개인은 간경변 및 간암으로 진행될 수 있는 활동성 질병을 발병한다. 이러한 환자는 주의 깊은 모니터링이 필요하며 치료적 개입이 필요하다.

[0003] 세포에서 HBV 감염을 조절함으로써 HBV 감염을 치료하기 위한 새로운 방법이 필요하다. 특히, 바이러스 복제를 효과적으로 방해하고, HBV-감염된 세포의 HBV 바이러스 로딩을 감소시키며, HBV-감염된 세포에서 공유적으로 폐쇄된 원형 HBV DNA의 전사를 감소시키며, 및/또는 HBV-감염된 세포에서 프리게놈 HBV RNA의 양을 감소시키는 방법이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

[0004] 본 발명은 (I) 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 (II) 인터페론(IFN) 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 관한 것으로, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은

[0005] (a) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트(Kabat) 정의, 코티아(Chothia) 정의, AbM 정의 또는 CDR의 접촉 정의(contact definition)에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;

[0006] (b) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의, 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;

[0007] (c) SEQ ID NO: 56과 적어도 90% 동일한 상보성 결정 영역(CDR) CDRH1, SEQ ID NO: 57과 적어도 90% 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 적어도 90% 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 적어도 90% 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 적어도 90% 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 적어도 90% 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;

[0008] (d) SEQ ID NO: 56과 동일한 CDRH1, SEQ ID NO: 57과 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;

[0009] (e) SEQ ID NO: 51에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 V_L ; 및/또는 SEQ ID NO: 55에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 V_H ;

[0010] (f) SEQ ID NO: 12에 기재된 아미노산 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 Fab 영역 중쇄; 또는

[0011] (g) SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49 및 SEQ ID NO: 48로 구성된 군에서 선택된 서열 또는 이들과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.

[0012] 본 발명의 일 양태에 따르면, IFN 또는 이의 기능성 단편은 I형 IFN, II형 IFN 및 III형 IFN, 또는 이들의 기능성 단편으로 구성된 군에서 선택된다. 바람직한 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편이다.

[0013] 일 구체예에 따르면, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 2a 또는 이의 기능성 단편이다. 바람직하게는, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

[0014] 다른 구체예에 따르면, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이다. 바람직한 구체예에서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.

- [0015] 추가 구체예에 따르면, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된다. 바람직하게는 IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된다.
- [0016] 다른 구체예에 따르면, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된다. 바람직하게는 IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된다.
- [0017] 다른 구체예에 따르면, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 이의 기능성 단편은 링커를 통해 서로 융합된다. 바람직한 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.
- [0018] 다른 구체예에 따르면, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 및 SEQ ID NO: 47로 구성된 군에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0019] 추가 구체예에 따르면, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 표 8에 개시된 서열 조합 중 하나를 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0020] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산에 관한 것이다. 바람직한 구체예에서, 핵산은 분비 신호 펩타이드를 추가로 인코딩한다.
- [0021] 추가의 양태에 따르면, 본 발명은 상기 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다.
- [0022] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 (I) 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터; 또는
- [0023] (II) 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함하는 벡터 시스템에 관한 것이다.
- [0024] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터 또는 벡터 시스템을 포함하는 조성물, 바람직하게는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0025] 추가의 양태에 따르면, 본 발명은 본 발명에 따른 핵산, 벡터 또는 벡터 시스템을 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다. 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 숙주 세포를 배양하고 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 회수하는 것을 포함하는 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제조 방법에 관한 것이다.
- [0026] 다른 양태에 따르면, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 관한 것이다.
- [0027] 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 대상체에서 B형 간염 바이러스(HBV) 감염의 치료 및/또는 HBV 감염의 하나 이상의 증상을 감소시키는데 사용하기 위한 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0028] 도 1: 이 개략도는 예시적인 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 형식을 묘사한다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합 작용제 항원 결합 단편이다. IFN은 링커를 통해 항체 또는 이의 항원 결합 단편의 상이한 위치에 연결된다: 경쇄(LC) 또는 중쇄(HC)의 N-말단 또는 C-말단 부분. 특히, IFN은 I형, II형 및 III형 인터페론 패밀리에서 선택된다.

도 2a는 pCMV 프로모터의 제어 하에서 SEQ ID NO: 32를 인코딩하는 pcDNA3.1 플라스미드의 예시적인 지도를 도시한다. SEQ ID NO: 32(SEQ ID NO: 59)를 인코딩 핵산 서열도 오른쪽에 제시되어 있다. 이탤릭체: 신호 펩타이드 서열; 검정색: CP870,893 중쇄 코딩 서열; 밑줄: HL 링커 코딩 서열; 볼드체: IFN β 코딩 서열.

도 2b는 중쇄 또는 경쇄에 융합된 IFN α 또는 IFN β 를 갖는 일부 IFA의 환원된 조건에서의 SDS PAGE의 예시를 나타낸다. 모 항체 CP870,893의 이동도 왼쪽에 표시된다.

도 3a-3b는 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 CD40-매개 NF κ B 경로 리포터 분석 활성화에 대한 IFN β 융합을 갖는 다수의 IFA 분자의 용량 의존적 효과를 그래프로 도시한다. 도 3a는 중쇄(HC)의 C-말단 부분에 융합된 IFN β 을 갖는 IFA에 대한 항-CD40 활성의 예시를 나타낸다. 도 3b는 LC(IFA34) 또는 HC(IFA36)의 N-말단 부분에 융합된 IFN β 및 C-말단 부분(IFA35 및 IFA37)의 상응하는 융합을 갖는 IFA에 대한 항-CD40 활성의 예시를 보여준다. IFA의 후자 그룹의 정제 수율은 매우 낮았으므로 활성을 시험하기 위해 HEK 형질감염된 세포로부터의 상등액을 사용하고 연속 희석하여 HEK-Blue™ CD40L 세포에 대한 항-CD40 활성을 평가하였다.

도 3c-3d는 리포터 HEK-Blue-IFN- α/β 세포에서 I형 IFN-경로 활성화에 대한 IFN β 융합을 갖는 다수의 IFA 분자의 용량 의존적 효과를 그래프로 도시한다. 도 3c는 HC의 C-말단 부분에 융합된 IFN β 을 갖는 IFA에 대한 IFN 활성의 예시를 보여준다. 도 3d는 LC(IFA34) 또는 HC(IFA36)의 N-말단 부분에 융합된 IFN β 및 C-말단 부분(IFA35 및 IFA37)의 상응하는 융합을 갖는 IFA에 대한 IFN 활성의 예시를 보여준다. 도 3b에서와 같이 HEK 형질감염된 세포로부터의 동일한 상등액을 사용하고 연속 희석하여 IFN 활성을 평가하였다. 모 항체 CP870,893을 음성 대조군으로 사용하고 제조함 인간 IFN β 을 양성 대조군으로 사용하였다. NS: 자극 없음.

도 4a는 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 CD40-매개 NF κ B 경로 리포터 분석 활성화에 대한 IFN α 융합을 갖는 다수의 IFA 분자의 용량 효과를 그래프로 도시한다.

도 4b는 리포터 HEK-Blue-IFN- α/β 세포에서 I형 IFN-매개 경로 활성화에 대한 IFN α 융합을 갖는 다수의 IFA 분자의 용량 효과를 그래프로 도시한다. Pegasys의 활성은 오른쪽 하단 모서리에 삽입되어 표시된다.

도 4c는 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 CD40-매개 NF κ B 경로 리포터 분석 활성화에 대한 HC(IFA38) 또는 LC(IFA39)에서 IFN α 융합 및 HL 링커를 갖는 IFA 분자의 효과를 그래프로 도시한다.

도 4d는 리포터 HEK-Blue-IFN α/β 세포에서 I형 IFN-경로의 활성화에 대한 IFA38 및 IFA39의 효과를 그래프로 도시한다.

도 5는 HBV에 감염된 프라이머리 간세포로부터의 HBeAg 방출에 대한 용량 의존적 방식으로 IFN β 기반 IFA의 효과를 도시한다. IFA1, IFA12: 각각 HL 또는 RL 링커를 통한 LC의 C-말단에 대한 IFN β 의 융합. IFA2 및 IFA13: 각각 HL 또는 RL 링커를 통해 LC의 C-말단에 대한 IFN β _C17S의 융합.

도 6a는 HBV에 의해 감염된 프라이머리 인간 간세포로부터의 HBeAg 방출에 대한 용량 의존적 방식으로 IFA25, IFA26 및 IFA27의 효과를 도시한다.

도 6b는 HBV에 의해 감염된 프라이머리 인간 간세포로부터의 HBeAg 방출에 대한 용량 의존적 방식으로 IFA28, IFA29 및 IFA30의 효과를 도시한다.

도 6c는 HBV-감염된 PHH에 대한 HL 링커(IFA38 및 IFA39)를 갖는 IFA의 용량 반응 항바이러스 활성(HBeAg 방출)을 도시한다.

도 6d-6h는 HBV로 감염된 프라이머리 인간 간세포에 대한 펩타이드 링커를 통해 IFN α 에 융합된 4개의 IFA 분자의 용량 반응 항바이러스 활성을 도시한다. 도 6d: 연구 설계를 보여주는 만화. 도 6e: Pegasys와 비교하여 HBeAg 방출에 대한 IFA의 영향. 도 6f: Pegasys와 비교하여 HBsAg 방출에 대한 IFA의 영향. 도 6g: Pegasys와 비교하여 pgRNA 수준에 대한 IFA의 효과. 도 6h: Pegasys와 비교하여 CXCL10 방출에 대한 IFA의 효과.

도 7은 인간 전혈 세포(WBC)의 시험관내 사이토카인 방출 분석의 결과를 도시한다: 4명의 건강한 지원자로부터 WBC를 자극한 후 얻은 데이터의 예시. WBC는 비-자극(NS)으로 두거나, LPS(10 ng/mL) 또는 IFA1(1 μ g/mL)으로 24시간 동안 처리되었다. 상등액이 수집되고 인간 사이토카인용 MSD u-Plex 키트를 사용하여 사이토카인 방출 정량화에 따랐다. 결과는 각 공여자로부터 2개의 독립적인 자극의 평균을 나타낸다. CXCL10(IP10), IL6, IL1 β 및 TNF α 의 프로파일이 표시된다.

표 9a-b: 이 표는 건강한 지원자로부터 얻은 전혈 세포(WBC)의 시험관내 자극 후 얻은 데이터를 요약한다. 각 IFA는 4명의 다른 공여자의 WBC에 대해 시험되었다. WBC는 무-처리(NT)로 두거나, 24시간 동안 LPS(10 ng/mL) 또는 IFA(1 μ g/mL)로 처리되었다. 상등액이 수집되고 인간 사이토카인용 MSD u-Plex 키트를 사용하여 사이토카인 방출 정량화에 따랐다. 결과는 각 공여자로부터 2개의 독립적인 자극의 평균을 나타내며 pg/mL로 표시된다 (nd: 검출되지 않음).

도 8: 마우스에 0.5 mg/kg(IFA) 또는 0.3 mg/kg(Pegasys) 정맥내 일시 주사 후 IFA25, IFA26, IFA27, IFA28, IFA29 및 IFA30의 약동학적 프로파일. 데이터는 반-대수 스케일(semi-logarithmic scale)에서 평균 $\pm$ SD로 표시된다. 샘플은 투여 후 최대 10일까지 수집되었다. 정량 방법을 위한 2차 항체로서 항-IFN α 를 사용하는 ELISA 분석은 IFA27, IFA29 및 IFA30(도 8A) 및 IFA25, IFA26 및 IFA28(도 8B)에 대해 사용되었다. IFA25 및 IFA27에 대한 정량 방법을 위한 2차 항체로서 항-IgG2를 사용한 ELISA 분석을 사용하였다(도 8C). 도 8D: Pegasys 정량화는 인간 IFN α 일치된 항체 쌍을 사용하여 수행되었다. 표시된 선(LLQ)은 Pegasys 분석에 대한 검출 한계를 나타낸다.

표 10A: PK 보고서 요약: 수컷 CD1 스위스 마우스에 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 투여 후 CP870,893, IFA27, IFA29 및 IFA30에 대한 PK 매개변수. CP870,893에 대한 PK 매개변수는 7일 실험에서 탐색되었고 IFA27, IFA29 및 IFA30에 대한 매개변수는 10일 실험에서 탐색되었다(IFA27에 대한 정량은 2가지 다른 ELISA 접근 방식을 사용하여 수행됨).

표 10B: PK 보고서 요약: 수컷 CD1 Swiss 마우스에 0.5 mg/kg의 단일 정맥내 일시 투여 후 CP870,893, Pegasys 및 3개의 상이한 IFA(IFA25, IFA26 및 IFA28)에 대한 PK 매개변수. CP870,893 및 IFA25, IFA26, IFA28 및 Pegasys에 대한 PK 매개변수를 21일 실험에서 조사하였다(IFA25에 대한 정량화는 2가지 상이한 ELISA 접근법을 사용하여 수행됨).

도 9A는 리포터 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 모 항-CD40 항체와 비교하여 Fc 영역이 없는 IFA50 및 IFA51의 용량 의존적 방식으로 CD40 작용제 활성을 도시한다. 도 9B는 리포터 HEK-Blue™ hIFN- α/β 세포에서 IFA50 및 IFA51의 용량 의존적 방식으로 IFN α 활성을 도시한다. 도 9C: HBV에 감염된 PHH로부터의 HBeAg 방출에 대한 IFA50 및 IFA51의 효과.

도 10A는 HEK-Blue™ CD40L 리포터 세포에서 모 항-CD40 항체와 비교하여 IFN ϵ 기반 IFA49의 용량 의존적 방식으로 CD40 작용제 활성을 도시한다. IFA49는 펩타이드 링커를 통한 HC에 대한 IFN ϵ 의 융합에 해당한다. 도 10B는 I형 인터페론에 의해 활성화되는 리포터 HEK-Blue™ hIFN- α/β 리포터 세포에 대한 IFA49의 용량 의존적 방식의 IFN 활성을 도시한다. 도 10C: HBV-감염 PHH로부터의 HBeAg 방출에 대한 IFA49의 효과.

도 11A는 HEK-Blue™ CD40L 리포터 세포에서 모 항-CD40 항체와 비교하여 IFN ω 기반 IFA46의 용량 의존적 방식으로 CD40 작용제 활성을 도시한다. IFA46은 펩타이드 링커를 통한 LC에 대한 IFN ω 의 융합에 해당한다. 도 11B는 I형 인터페론에 의해 활성화되는 리포터 HEK-Blue™ hIFN- α/β 리포터 세포에 대한 IFA46의 용량 의존적 방식의 IFN 활성을 도시한다. 도 11C: HBV-감염된 PHH로부터의 HBeAg 방출에 대한 IFA46의 효과.

도 12A는 HEK-Blue™ CD40L 리포터 세포에서 모 항-CD40 항체와 비교하여 IFN γ 기반 IFA(IFA42 및 IFA43)의 용량 의존적 방식으로 CD40 작용제 활성을 도시한다. IFA42는 펩타이드 링커를 통한 LC에 대한 IFN γ 의 융합에 해당하고 IFA43은 펩타이드 링커를 통한 HC에 대한 IFN γ 의 융합에 해당한다. 도 12B는 리포터 HEK-Blue-hIFN γ 세포에서 IFA42 및 IFA43의 용량 의존적 방식으로 IFN 활성을 도시한다. 도 12C: HBV-감염 PHH로부터의 HBeAg 방출에 대한 IFA42 및 IFA43의 효과.

도 13A는 HEK-Blue™ CD40L 리포터 세포에서 모 항-CD40 항체와 비교하여 IFN λ 기반 IFA(IFA44 및 IFA45)의 용량 의존적 방식으로 CD40 작용제 활성을 도시한다. IFA44는 펩타이드 링커를 통한 LC에 대한 IFN λ 의 융합에 해당하고, IFA45는 펩타이드 링커를 통한 HC에 대한 IFN λ 의 융합에 해당한다. 도 13B는 리포터 HEK-Blue-hIFN λ 세포에서 IFA44 및 IFA45의 용량 의존적 방식으로 IFN 활성을 도시한다. 도 13C: HBV-감염된 PHH로부터의 HBeAg 방출에 대한 IFN λ 기반 IFA(IFA44 및 IFA45)의 효과.

본 발명의 상기 및 기타 특징 및 이점은 첨부 도면과 함께 취해진 예시적인 구체예의 다음의 상세한 설명으로부터 더욱 완전하게 이해될 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029]

본 발명은 부분적으로 B형 간염 바이러스(HBV) 요법에서 (I) 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편 및 (II) 인터페론(IFN) 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 "인터페론-결합된 항원 결합 단백질", 이의 변이체 또는 유도체의 용도에 기초한 요법의 발견에서 기초한다. 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 HBV-감염 세포에서 B형 간염 바이러스의 공유적으로 폐쇄된 원형 DNA(cccDNA)의 프리게놈 HBV RNA(pgRNA)로의 전사를 억제하고, HBV-감염 세포로부터 B형 간염 e-항원(HBeAg)의 방출을 억제하며, 감염되지 않는 및 HBV 감염된 간세포에서, 특히 감염되지 않는 및 HBV 감염된 프라이머리 인간 간세포에서 및 상승적 방식으로 IFN 경로를 향

상시킨다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 HBV-감염 세포, 또는 HBV에 감염된 대상체에게 투여하는 것을 포함하는 HBV 요법이 제공된다.

[0030] 본 발명은 하기에 정의된 선택된 용어에 비추어 보다 쉽게 이해될 수 있다.

[0031] 본원에 사용된 용어 "CD40"은 종양 괴사 인자 수용체(TNFR) 슈퍼패밀리의 구성원인 "Cluster of differentiation 40"을 지칭한다. CD40은 항원제시세포(예를 들어, B 세포, 수지상세포, 단핵구), 조혈 전구세포, 내피 세포, 평활근 세포, 상피 세포 및 대부분의 인간 종양에서 발견되는 보조자극 단백질이다(Grewal & Flavell, Ann. Rev. Immunol., 1996, 16: 111-35; Toes & Schoenberger, Seminars in Immunology, 1998, 10(6): 443-8). T_H 세포의 천연 리간드 CD154(CD40L)가 CD40에 결합하면 항원제시세포가 활성화되고 다양한 다운스트림 효과가 유도된다. TNF-수용체 관련 인자 어댑터 단백질 TRAF1, TRAF2, TRAF6 및 TRAF5는 CD40과 상호 작용하고 신호 전달의 매개체 역할을 한다. 궁극적으로 CD40 신호는 표준 및 비표준 NF- κ B 경로를 모두 활성화한다.

[0032] 작용제 항-CD40 항체 및 이의 항원 결합 단편

[0033] 본원에 사용된 용어 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호 연결된 4개의 폴리펩타이드쇄, 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L), 뿐만 아니라 이의 다량체(예를 들어, IgM)를 포함하는 면역글로불린 분자를 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(약칭 VH 또는 V_H) 및 중쇄 불변 영역(CH 또는 C_H)을 포함한다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3을 포함한다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(VL 또는 V_L 로 약칭) 및 경쇄 불변 영역(CL 또는 C_L)을 포함한다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인(CL1)을 포함한다. VH 및 VL 영역은 "프레임워크 영역"(FR)이라고 하는 더 보존된 영역이 산재되어 있는 "상보성 결정 영역(CDR)"이라고 하는 초가변성 영역으로 더 세분화될 수 있다. 각 VH 및 VL은 아미노 말단에서 카르복시 말단으로 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된 3개의 CDR과 4개의 FR로 구성된다. 프레임워크 영역은 항원 결합 영역과 항원 사이의 결합을 촉진하기 위한 CDR의 적절한 구조를 유지하는 데 도움이 될 수 있다.

[0034] 치료 용도에 가장 일반적으로 사용되는 면역글로불린은 사량체 당단백질인 면역글로불린 G(또는 IgG)이다. 자연적으로 발생하는 면역글로불린에서 각 사량체는 2개의 동일한 폴리펩타이드 사슬 쌍으로 구성되며, 각 쌍에는 1개의 경쇄(약 25kDa)와 1개의 중쇄(약 50-70kDa)가 있다. 각 사슬의 아미노 말단 부분은 항원 인식을 주로 담당하는 약 100 내지 110개 이상의 아미노산의 가변 영역을 포함한다. 각 사슬의 카르복시 말단 부분은 주로 이펙터 기능을 담당하는 불변 영역을 정의한다. 면역글로불린은 중쇄의 불변 도메인의 아미노산 서열에 따라 상이한 클래스로 지정될 수 있다.

[0035] 중쇄는 뮤(μ), 델타(δ), 감마(γ), 알파(α) 및 엡실론(ϵ)으로 분류되며 항체의 이소타입은 각각 IgM, IgD, IgG, IgA 및 IgE로 정의된다. 이들 중 몇몇은 서브클래스 또는 이소타입, 예컨대 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2으로 더 나눌 수 있다. 서로 다른 이소타입은 서로 다른 이펙터 기능을 가지고 있다. 예를 들어, IgG1 및 IgG3 이소타입은 항체 의존성 세포 세포독성(ADCC) 활성을 가지고 있다. 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 IgG 클래스의 것이다. 보다 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항 CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 IgG1 또는 IgG3 서브클래스의 것이다. 특히 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항 CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 IgG1 서브클래스의 것이다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항 CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 IgG2 또는 IgG4 서브클래스의 것이다. 특히 바람직한 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 IgG2 서브클래스의 것이다.

[0036] 인간의 경쇄는 카파(κ) 경쇄와 람다(λ) 경쇄로 분류된다. 따라서, 일부 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 κ 클래스의 경쇄를 포함한다. 다른 구체예에서, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 포함된 작용제 항 CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 λ 클래스의 경쇄를 포함한다. 경쇄 및 중쇄 내에서 가변 및 불변 영역은 약 12개 이상의 아미노산으로 구성된 "J" 영역에 의해 연결되며, 중쇄는 약 10개 이상의 아미노산의 "D" 영역을 추가로 포함한다. 일반적으로 Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))를 참조할 것.

- [0037] "항체"라는 용어는 단클론 항체, 이중특이적 항체, 미니바디, 도메인 항체, 합성 항체(때때로 "항체 모방체"로 지칭됨), 키메라 항체, 인간화 항체, 인간 항체 및 이들의 단편을 각각 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 달리 명시되지 않는 한, 용어 "항체"는 2개의 전장 중쇄 및 2개의 전장 경쇄를 포함하는 항체 이외에 이들의 유도체, 변이체, 항원 결합 단편 및 뮤테인을 포함하며, 이들의 예는 하기에 기재되어 있다.
- [0038] 본원에 사용된 용어 "작용제 CD40 항체" 또는 "작용제 항-CD40 항체"는 CD40에 결합하고 CD40 신호전달을 매개하는 항체를 지칭한다. 바람직한 구체예에서, 이는 인간 CD40에 결합한다. 하기에 기술된 바와 같이, CD40에 대한 결합은 표면 플라즈몬 공명을 사용하여, 바람직하게는 BIAcore® 시스템을 사용하여 결정할 수 있다. 작용제 항-CD40 항체는 CD40을 발현하는 세포, 조직 또는 유기체에 첨가될 때 하나 이상의 CD40 활성을 적어도 약 20% 증가시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 항체는 CD40 활성을 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 85% 활성화한다. 작용제 항-CD40 항체의 CD40 활성은 실시예 1에 더 자세히 설명되어 있는 바와 같이, 전혈 표면 분자 상향조절 분석을 사용하거나 시험관내 리포터 세포 분석 예를 들어 HEK-Blue™ CD40L 세포(InvivoGen Cat.#: hkb-cd40)를 사용하여 측정할 수 있다. 이들 리포터 세포는 CD40 작용제의 활성을 측정하기 위해 인간 CD40 유전자 및 NF-κB-유도성 분비 배아 알칼리성 인산분해효소(SEAP) 작제물로 HEK293 세포를 안정적으로 형질감염시켜 생성되었다. CD40을 자극하면 NF-κB가 활성화되어 SEAP가 생성되며, 이는 QUANTI-Blue™와 같은 발색 기질을 사용하여 상등액에서 검출할 수 있다.
- [0039] 본 발명의 맥락에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 CD40 및 IFN 경로 둘 다를 활성화한다. 특정 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 400, 300, 200, 150, 100, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 ng/mL 미만의 EC₅₀으로 CD40 경로를 활성화한다. 보다 구체적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 10 내지 200 ng/mL 범위의 EC₅₀으로 CD40 경로를 활성화한다. 훨씬 더 구체적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 10 내지 50 ng/mL, 바람직하게는 10 내지 30 ng/mL 범위의 EC₅₀으로 CD40 경로를 활성화한다.
- [0040] 작용제 항-CD40 항체 CP870,893의 예시적인 경쇄 및 중쇄 서열은 표 7에 제시되어 있다.
- [0041] 본원에 사용된 용어 작용제 항-CD40 항체의 "작용제 항원 결합 단편"은 세포에서 CD40 신호전달의 작용제로서 작용하거나 이에 결합하는 능력과 같은 원래의 항체의 하나 이상의 기능적 활성을 보유하는 작용제 항-CD40 항체의 단편을 지칭한다. 예를 들어, 그것은 CD40 경로 신호전달을 매개한다. 이러한 단편은 CD40에 대한 결합에 대해 온전한 항체와 경쟁할 수 있다.
- [0042] 작용제 항-CD40 항체의 작용제 항원 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해 생성될 수 있거나, 항-CD40 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생성될 수 있다. 작용제 항원 결합 단편에는 Fab 단편, 디아바디(경쇄 가변 도메인과 동일한 폴리펩타이드의 중쇄 가변 도메인, 동일한 사슬의 두 도메인 사이의 페어링을 허용하기에는 너무 짧은 짧은 펩타이드 링커를 통해 연결됨), Fab' 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편, 도메인 항체 및 단일쇄 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않으며, 인간, 마우스, 래트, 낙타류 또는 토끼를 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 포유동물 공급원으로부터 유래될 수 있다.
- [0043] 용어 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"은 일반적으로 대략 중쇄 내 아미노 말단의 120 내지 130개의 아미노산 및 경쇄 내 약 100 내지 110개의 아미노 말단의 아미노산을 포함하는 항체의 경쇄 및/또는 중쇄의 일부를 지칭한다. 상이한 항체의 가변 영역은 동일한 중 또는 동일한 클래스로부터 유래된 항체 간에도 아미노산 서열이 광범위하게 상이하다. 작용제 항-CD40 항체 CP870,893의 예시적인 V_L 및 V_H 도메인 서열은 표 1에 제시되어 있다. 항체의 가변 영역은 일반적으로 CDR을 포함하기 때문에 표적에 대한 특정 항체의 특이성을 결정한다. 표 1은 또한 작용제 항-CD40 항체 CP870,893의 예시적인 CDR 서열을 보여준다.

표 1

- [0044] 작용제 항-CD40 항체 CP870,893의 항-CD40 항체 중쇄/경쇄 가변 영역 및 CDR. 굵은 이탤릭체 서열은 카바트(Kabat) 정의에 따른 CDR 영역에 해당함.

항-CD40 항체 영역	서열
항CD40 항체 V _L 도메인(SEQ ID NO: 51)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITC <i>RASQGIYSWLA</i> WYQQKPGKAPNLLIY <i>TASTLQS</i> GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <i>QGANIFPLT</i> PGGGTKVEIK
항CD40 항체 CDRL1(SEQ ID NO: 52)	<i>RASQGIYSWLA</i>
항CD40 항체 CDRL2(SEQ ID NO: 53)	<i>TASTLQS</i>

항CD40 항체 CDRL3(SEQ ID NO: 54)	QQANIFPLT
항CD40 항체 V _H 도메인(SEQ ID NO: 55)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF TGYMH VRQAPGQGLEWMG WINPDSGGT NYAQKFQG RVTMTTRDTSISTAYMELNRLSDDTAVYYCAR DQPLGYCTNGVCSYFDY GGTLTVTVSS
항CD40 항체 CDRH1(SEQ ID NO: 56)	TGYMH
항CD40 항체 CDRH2(SEQ ID NO: 57)	WINPDSGGTNYAQKFQG
항CD40 항체 CDRH3(SEQ ID NO: 58)	DQPLGYCTNGVCSYFDY

[0045] CDR의 묘사 및 항체의 결합 부위를 포함하는 잔기의 확인은 항체의 구조를 밝히고 및/또는 항체-리간드 복합체의 구조를 밝힘으로써 달성될 수 있다. 이는 X-선 결정학과 같은 당업자에게 공지된 다양한 기술 중 임의의 것에 의해 달성될 수 있다. 다양한 분석 방법을 사용하여 CDR 영역을 확인하거나 근사화할 수 있다. 이러한 방법의 예에는 카바트 정의, 코티아(Chothia) 정의, AbM 정의 및 접촉 정의(contact definition)가 포함되나 이에 제한되지 않는다.

[0046] 카바트 정의는 항체 내 잔기들의 번호를 매기기 위한 표준이며 일반적으로 CDR 영역을 확인하는 데 사용된다. 예를 들어, Johnson & Wu, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8 (2000) 참조할 것. 코티아 정의는 카바트 정의와 유사하지만 코티아 정의는 특정 구조적 루프 영역의 위치를 고려한다. 예를 들어, Chothia *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17 (1986); Chothia *et al.*, *Nature*, 342: 877-83 (1989) 참조할 것. AbM 정의는 항체 구조를 모델링하는 Oxford Molecular Group에서 생산한 통합 컴퓨터 프로그램 제품군을 사용한다. 예를 들어, Martin *et al.*, *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272 (1989); "AbMTM, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies," Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd. The AbM definition models the tertiary structure of an antibody from primary sequence using a combination of knowledge databases and *ab initio* methods, such as those described by Samudrala *et al.*, "Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach," in *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198 (1999) 참조할 것. 접촉 정의는 사용 가능한 복잡한 결정 구조의 분석을 기반으로 한다. 예를 들어, MacCallum *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 5:732-45 (1996) 참조할 것.

[0047] 특정 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 상보성 결정 영역 (CDR)은 동일하거나 다른 종의 프레임워크 영역 (FR)에 이식될 수 있다. 특정 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 CDR은 공통(consensus) 인간 FR에 이식될 수 있다. 공통 인간 FR을 생성하기 위해, 특정 구체예에서, 여러 인간 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열로부터의 FR을 정렬하여 공통 아미노산 서열을 확인한다. 특정 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 FR은 상이한 중쇄 또는 경쇄로부터의 FR로 대체된다. 특정 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄의 FR에 있는 희귀 아미노산은 대체되지 않으나, 나머지 FR 아미노산은 대체된다. 희귀 아미노산은 일반적으로 FR에서 발견되지 않는 위치에 있는 특정 아미노산이다. 특정 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편으로부터의 이식된 가변 영역은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 불변 영역과 상이한 불변 영역과 함께 사용될 수 있다. 특정 구체예에서, 이식된 가변 영역은 단일 사슬 Fv 항체의 일부이다. CDR 이식은 예를 들어 미국 특허 번호 6,180,370, 6,054,297, 5,693,762, 5,859,205, 5,693,761, 5,693,761, 5,693,761, 5,565,332, 5,565,332, 5,565,332, 및 Jones 등의 5,565,332, 5,585,5089; Riechmann *et al.*, *Nature*, 332: 323-327(1988); Verhoeyen *et al.*, *Science*, 239:1534-1536 (1988), Winter, *FEBS Letts.*, 430:92-94 (1998)에 기재되어 있으며, 이는 임의의 목적을 위해 본원에 참고로 포함된다.

[0048] "Fc" 영역은 전형적으로 항체의 C_H2 및 C_H3 도메인을 포함하는 2개의 중쇄 단편을 포함한다. 2개의 중쇄 단편은 2개 이상의 이황화 결합과 C_H3 도메인의 소수성 상호작용에 의해 함께 유지된다.

[0049] "Fab 단편"은 1개의 전장 경쇄 뿐만 아니라 1개의 중쇄의 C_H1 및 가변 영역을 포함한다(V_H 및 C_H1 영역의 조합은 본원에서 "fab 영역 중쇄"로 지칭됨).

[0050] "Fab' 단편"은 1개의 경쇄; 및 V_H 도메인 및 C_H1 도메인 및 또한 C_H1 및 C_H2 도메인 사이의 영역을 포함하는 1개의 중쇄의 일부를 포함함으로써 사슬간 이황화 결합이 2개의 Fab' 단편의 2개의 중쇄 사이에 형성되어 F(ab')₂ 분자를 형성할 수 있도록 한다.

- [0051] "F(ab')₂ 단편"은 2개의 경쇄 및 C_H1 및 C_H2 도메인 사이의 불변 영역의 일부를 함유하는 2개의 중쇄를 포함함으로써 2개의 중쇄 사이에 사슬간 이황화 결합이 형성되도록 한다. 따라서 F(ab')₂ 단편은 2개의 중쇄 사이의 이황화 결합에 의해 함께 유지되는 2개의 Fab' 단편으로 구성된다.
- [0052] "Fv 영역"은 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 영역을 포함하나 불변 영역은 없다.
- [0053] "단일쇄 항체"는 중쇄 및 경쇄 가변 영역이 가요성 링커에 의해 연결되어 단일 폴리펩타이드 쇄를 형성하고, 이는 항원 결합 영역을 형성하는 Fv 분자이다. 단일쇄 항체는 국제 특허 출원 공개 번호 WO 88/01649 및 미국 특허 번호 4,946,778 및 5,260,203에 상세히 논의되어 있으며, 이들의 개시 내용은 참고로 포함된다.
- [0054] "도메인 항체"는 중쇄의 가변 영역 또는 경쇄의 가변 영역만을 함유하는 면역학적으로 기능적인 면역글로불린 단편이다. 일부 경우에, 2개 이상의 V_H 영역은 펩타이드 링커와 공유적으로 연결되어 2가 도메인 항체를 생성한다. 2가 도메인 항체의 2개의 V_H 영역은 동일하거나 상이한 항원을 표적으로 할 수 있다.
- [0055] 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질과 같은 항체 또는 항원 결합 단백질은 바람직하게는 $\leq 10^{-7}$ M의 해리 상수(K_d)로 이의 표적 항원에 결합한다. 항체 또는 항원 결합 단백질은 K_d가 $\leq 5 \times 10^{-9}$ M일 때 "높은 친화성"으로, K_d가 $\leq 5 \times 10^{-10}$ M일 때 "매우 높은 친화성"으로 항원에 결합한다. 보다 바람직하게는, 항체 또는 항원 결합 단백질은 $\leq 10^{-9}$ M의 K_d를 갖는다. 일부 구체예에서, 오프-속도는 $< 1 \times 10^{-5}$ 이다. 다른 구체예에서, 항체 또는 항원 결합 단백질은 약 10^{-9} M 내지 10^{-13} M의 K_d로 인간 CD40에 결합할 것이고, 또 다른 구체예에서, 항체 또는 항원 결합 단백질은 K_d $\leq 5 \times 10^{-10}$ 로 결합할 것이다. 당업자에 의해 이해되는 바와 같이, 일부 구체예에서, 항원 결합 단편 중 임의의 또는 전부가 CD40에 결합할 수 있다. 바람직하게는, 상기 상수는 표면 플라즈몬 공명을 사용하여, 보다 바람직하게는 BIAcore® 시스템을 사용하여 결정된다.
- [0056] 용어, "표면 플라즈몬 공명"은 예를 들어 BIAcore® 시스템(BIAcore International AB, a GE Healthcare company, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내 단백질 농도의 변화를 감지하여 실시간 생물특이 상호작용을 분석할 수 있는 광학 현상을 의미한다. 자세한 설명은 Jonsson et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26 참조할 것. 용어 "K_{on}"은 결합 단백질(예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단백질)이 항원에 결합하여 예를 들어 항원 결합 단백질/항원 복합체를 형성하기 위한 온-속도(on-rate) 상수를 의미한다. "K_{on}" 또는 "온-속도"라는 용어는 또한 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 "결합속도 상수" 또는 "k_a"를 의미한다. 표적 항원에 대한 결합 단백질의 결합 속도 또는 항체 또는 항원 결합 단백질과 같은 결합 단백질과 항원 사이의 복합체 형성 속도를 나타내는 이 값은 또한 하기 방정식으로 나타낸다:
- [0057] 항체("Ab")+항원("Ag") → Ab-Ag
- [0058] 용어 "K_{off}" 또는 "오프-속도(off-rate)"는 예를 들어, 당업계에 공지된 항원 결합 단백질/항원 복합체로부터의 결합 단백질(예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단백질)의 해리에 대한 오프-속도 상수 또는 "해리 속도 상수"를 의미한다. 이 값은 표적 항원으로부터 결합 단백질, 예를 들어 항체 또는 항원 결합 단백질의 해리 속도 또는 시간 경과에 따른 Ab-Ag 복합체의 유리 항체 및 항원으로의 분리를 아래 방정식으로 나타낸 바와 같이 나타낸다:
- [0059] Ab+Ag ← Ab-Ag
- [0060] 용어 "K_d" 및 "평형 해리 상수"는 평형에서의 적정 측정에서, 또는 해리 속도 상수(K_{off})를 결합 속도 상수(K_{on})로 나누어 얻은 값을 의미한다. 결합 속도 상수, 해리 속도 상수 및 평형 해리 상수는 항원에 대한 결합 단백질(예를 들어, 항체 또는 항원 결합 단백질)의 결합 친화성을 나타내는 데 사용된다. 결합 및 해리 속도 상수를 결정하는 방법은 당업계에 잘 알려져 있다. 형광 기반 기술을 사용하면 높은 감도와 평형 상태에서 생리학적 완충액의 샘플을 검사할 수 있다. BIAcore®(생체분자 상호작용 분석) 분석과 같은 다른 실험적 접근 및 기기가 사용될 수 있다(예를 들어, BIAcore International AB로부터 입수가 가능한 기기, GE Healthcare company, Uppsala, Sweden). 추가적으로, Sapidyn Instruments(Boise, Id.)로부터 입수가 가능한 KinExA®(Kinetic Exclusion Assay) 분석이 또한 사용될 수 있다.

- [0061] 본 발명에 따른 항원 결합 단백질은 제2 표적에 대한 것보다 100배 이상, 바람직하게는 2배 이상 높은 친화성으로 하나의 표적에 결합할 수 있다.
- [0062] 용어 "표적"은 항원 결합 단백질에 의해 결합될 수 있는 분자 또는 분자의 일부를 지칭한다. 특정 구체예에서, 표적은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다. 따라서 표적은 본 발명의 "항원 결합 단백질"에 대한 "항원"으로 작용할 수 있음이 이해될 것이다.
- [0063] 용어 "에피토프"는 항체와 같은 항원 결합 단백질에 의해 결합될 수 있는 임의의 결정인자를 포함한다. 에피토프는 해당 항원을 표적으로 하는 항원 결합 단백질에 의해 결합되는 항원의 영역이며, 항원이 단백질인 경우 항원 결합 단백질과 직접 접촉하는 특정 아미노산을 포함한다. 대부분의 경우 에피토프는 단백질에 상주하지만 경우에 따라 핵산과 같은 다른 종류의 분자에 상주할 수도 있다. 에피토프 결정인자는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 또는 설포닐 그룹과 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹을 포함할 수 있으며 특정 3차원 구조적 특성 및/또는 특정 전하 특성을 가질 수 있다. 일반적으로, 특정 표적 항원에 특이적인 항체는 단백질 및/또는 거대분자의 복합 혼합물에서 표적 항원 상의 에피토프를 우선적으로/특이적으로 인식할 것이다.
- [0064] 예시적인 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 일부분(I)을 형성하는 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 중쇄 CDR을 포함한다. 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 또한 SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 동일한 3개의 중쇄 CDR을 포함한다. 이러한 구체예에서, 각각의 CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의, 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의된다; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의된다. 특정 구체예에서, 각각의 CDR은 카바트 정의에 따라 정의된다. 다른 특정 구체예에서, 각각의 CDR은 코티아 정의에 따라 정의된다.
- [0065] 대안으로, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 일부분(I)을 형성하는 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은
- [0066] (a) SEQ ID NO: 56과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 상보성 결정 영역(CDR) CDRH1, SEQ ID NO: 57과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및
- [0067] (b) SEQ ID NO: 52와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편을 포함한다.
- [0068] 일부 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은
- [0069] (a) SEQ ID NO: 56과 동일한 상보성 결정 영역(CDR) CDRH1, SEQ ID NO: 57과 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및
- [0070] (b) SEQ ID NO: 52와 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편을 포함한다.
- [0071] 보다 구체적으로 작용제 항-CD40 항체, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 51에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 V_L ; 및/또는 SEQ ID NO: 55에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 V_H 를 포함한다.
- [0072] 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 또한 SEQ ID NO: 12에 기재된 아미노산 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 Fab 영역 중쇄를 포함하는 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 포함할 수 있다.
- [0073] 일부 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 12 및 SEQ ID NO: 50으로 구성된 군에서 선택된 서열 또는 이들과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.

- [0074] 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0075] 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0076] 다른 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 49에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0077] 다른 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0078] 다른 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0079] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이의 성분의 변이체 및 유도체
- [0080] 폴리펩타이드(예를 들어, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편, 항체, 항원 결합 단백질, 또는 IFN, 또는 이들의 성분)의 "변이체"는 아미노산 서열을 포함하되, 1, 2, 3, 4, 5개 이상의 아미노산 잔기는 또 다른 폴리펩타이드 서열에 비해 아미노산 서열 내로 삽입, 결실 및/또는 치환된다. 바람직하게는, 변이체는 최대 10개의 삽입, 결실 및/또는 치환, 보다 바람직하게는 최대 8개의 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 보다 구체적으로, 변이체는 최대 10개, 보다 바람직하게는 최대 8개의 삽입을 포함할 수 있다. 변이체는 또한 최대 10개, 보다 바람직하게는 최대 8개의 결실을 포함할 수 있다. 훨씬 더 바람직한 구체예에서, 변이체는 최대 10개의 치환, 가장 바람직하게는 최대 8개의 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 이러한 치환은 하기에 기재된 바와 같은 보존적 아미노산 치환이다.
- [0081] 폴리뉴클레오타이드 서열(예를 들어, RNA 또는 DNA)의 "변이체"는 다른 폴리뉴클레오타이드 서열에 비해 폴리뉴클레오타이드 서열 내의 하나 이상의 돌연변이를 포함하되, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 핵산 잔기가 핵산 서열 내로 삽입, 핵산 서열로부터 결실 및/또는 핵산 서열 내로 치환된다. 바람직하게는, 변이체는 최대 10개의 삽입, 결실 및/또는 치환, 보다 바람직하게는 최대 8개의 삽입, 결실 및/또는 치환을 포함한다. 보다 구체적으로, 변이체는 최대 10개, 보다 바람직하게는 최대 8개의 삽입을 포함할 수 있다. 변이체는 또한 최대 10개, 보다 바람직하게는 최대 8개의 결실을 포함할 수 있다. 훨씬 더 바람직한 구체예에서, 변이체는 최대 10개의 치환, 가장 바람직하게는 최대 8개의 치환을 포함한다. 상기 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 돌연변이는 다른 아미노산 서열(즉, "비-침묵 돌연변이")과 비교하여 변이체가 인코딩하는 아미노산 서열 내 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 아미노산 교환을 유발할 수 있다. 변이체는 또한 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 코돈이 아미노산 교환을 유발하지 않는 이의 동의어에 의해 대체된 바 있는 핵산 서열을 포함하므로 "침묵 돌연변이"로 불린다.
- [0082] 폴리펩타이드 또는 뉴클레오타이드 서열의 변이체의 맥락에서, 용어 "동일성" 또는 "상동성"은 서열을 정렬 및 비교하여 결정될 때 2개 이상의 폴리펩타이드 분자 또는 2개 이상의 핵산 분자의 서열 사이의 관계를 지칭한다. "퍼센트 동일성"은 비교되는 분자에서 아미노산 또는 뉴클레오타이드 사이의 동일한 잔기의 퍼센트를 의미하며, 비교되는 가장 작은 분자의 크기를 기준으로 계산된다. 바람직하게는, 동일성은 서열의 전장에 걸쳐 결정된다. "적어도 80% 동일한"이라는 표현은 청구된 서열이 레퍼런스 서열과 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 구체예를 포함하는 것으로 이해된다. "적어도 90% 동일한"이라는 표현은 청구된 서열이 레퍼런스 서열과 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도

96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 구체예를 포함한다.

- [0083] 퍼센트 동일성을 계산하기 위해, 정렬의 갭(있는 경우)은 바람직하게는 특정 수학적 모델 또는 컴퓨터 프로그램(즉, "알고리즘")에 의해 처리된다. 정렬된 핵산 또는 폴리펩타이드의 동일성을 계산하는 데 사용할 수 있는 방법은 *Computational Molecular Biology*, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; *Biocomputing Informatics and Genome Projects*, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; *Computer Analysis of Sequence Data, Part I*, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, *Sequence Analysis in Molecular Biology*, New York: Academic Press; *Sequence Analysis Primer*, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; and Carillo *et al.*, 1988, *SIAM J. Applied Math.* 48:1073에 기술된 것들을 포함한다.
- [0084] 퍼센트 동일성을 계산할 때, 비교되는 서열은 일반적으로 서열 간에 가장 큰 일치율을 제공하는 방식으로 정렬된다. 퍼센트 동일성을 결정하는 데 사용할 수 있는 컴퓨터 프로그램의 한 예는 GAP를 포함하는 GCG 프로그램 패키지이다(Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI). 컴퓨터 알고리즘 GAP는 퍼센트 서열 동일성이 결정될 2개의 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오타이드를 정렬하는 데 사용된다. 서열은 각각의 아미노산 또는 뉴클레오타이드(알고리즘에 의해 결정된 "일치된 범위")의 최적 일치율을 위해 정렬된다. PAM250 또는 BLOsum 62와 같은 비교 매트릭스뿐만 아니라 갭 오픈 패널티(이는 평균 대각선의 3배로 계산되며, 여기서 "평균 대각선"은 사용 중인 비교 행렬의 대각선의 평균임. "대각선"은 특정 비교 행렬에 의해 각 완벽한 아미노산 일치에 할당된 점수 또는 숫자임) 및 갭 확장 패널티(일반적으로 갭 개방 패널티의 1/10)가 알고리즘과 함께 사용된다. 특정 구체예에서, 표준 비교 매트릭스(Dayhoff *et al.*, 1978, *Atlas of Protein Sequence and Structure* 5:345-352 for the PAM 250 comparison matrix; Henikoff *et al.*, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:10915-10919 for the BLOsum 62 comparison matrix 참조)도 알고리즘에 사용된다.
- [0085] GAP 프로그램을 사용하여 폴리펩타이드 또는 뉴클레오타이드 서열에 대한 퍼센트 동일성을 결정하는 데 사용할 수 있는 매개변수의 예는 다음과 같다:
- [0086] ● 알고리즘: Needleman *et al.*, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443-453
- [0087] ● 비교 매트릭스: Henikoff *et al.*, 1992, *supra*로부터의 BLOsum 62
- [0088] ● 갭 패널티: 12(단, 엔드 갭에 대한 패널티 없음)
- [0089] ● 간격 길이 패널티: 4
- [0090] ● 유사도 임계값: 0
- [0091] 2개의 아미노산 서열을 정렬하기 위한 특정 정렬 방식은 2개의 서열 중 단지 짧은 영역의 매칭을 초래할 수 있으며, 이 작은 정렬된 영역은 2개의 전장 서열 사이에 유의미한 관계가 없더라도 매우 높은 서열 동일성을 가질 수 있다. 따라서, 선택된 정렬 방법(GAP 프로그램)은 표적 폴리펩타이드의 인접 아미노산의 적어도 50개 또는 적어도 100개, 바람직하게는 전장에 걸친 정렬을 유발하도록 원하는 경우 조정될 수 있다.
- [0092] 보존적 아미노산 치환은 비천연 아미노산 잔기를 포함할 수 있으며, 이는 일반적으로 생물학적 시스템에서의 합성보다는 화학적 펩타이드 합성에 의해 통합된다. 여기에는 펩티도미메틱(peptidomimetic) 및 기타 리버스 또는 인버트 형태의 아미노산 모이어티가 포함된다.
- [0093] 자연적으로 발생하는 잔기는 공통 측쇄 특성에 따라 분류할 수 있다.
- [0094] 1) 소수성: Norleucine, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- [0095] 2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- [0096] 3) 산성: Asp, Glu;
- [0097] 4) 염기성: His, Lys, Arg;
- [0098] 5) 사슬 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및
- [0099] 6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.
- [0100] 예를 들어, 비-보존적 치환은 이러한 클래스 중 하나의 구성원을 다른 클래스의 구성원으로 교환하는 것을 포함

할 수 있다. 이러한 치환된 잔기는 예를 들어, 비-인간 항체와 상동인 인간 항체의 영역 내로, 또는 분자의 비-상동 영역 내로 도입될 수 있다.

[0101] 특정 구체예에 따르면, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 변경함에 있어서, 아미노산의 수치(hydropathic) 지수가 고려될 수 있다. 각 아미노산은 소수성과 전하 특성을 기반으로 수치 지수가 배정되었다. 그들은 이소루신(+4.5); 발린(+4.2); 루신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스틴(+2.5); 메티오닌(+1.9); 알라닌(+1.8); 글리신(-0.4); 트레오닌(-0.7); 세린(-0.8); 트립토판(-0.9); 티로신(-1.3); 프롤린(-1.6); 히스티딘(-3.2); 글루타메이트(-3.5); 글루타민(-3.5); 아스파테이트(-3.5); 아스파라긴(-3.5); 리신(-3.9); 및 아르기닌(-4.5)이다.

[0102] 단백질에 상호작용적인 생물학적 기능을 부여하는 데 있어서 아미노산 수치 지수의 중요성은 당업계에서 이해된다. Kyte et al., J. Mol. Biol., 157:105-131(1982). 특정 아미노산은 유사한 수치 지수 또는 점수를 갖는 다른 아미노산으로 치환될 수 있으며 여전히 유사한 생물학적 활성을 유지하는 것으로 알려져 있다. 특정 구체예에서, 수치 지수에 기초하여 변경을 함에 있어서, 수치 지수가 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함된다. 특정 구체예에서는 ± 1 이내의 것이 포함되고, 특정 구체예에서는 ± 0.5 이내의 것이 포함된다.

[0103] 유사 아미노산의 치환은 친수성에 기초하여 효과적으로 이루어질 수 있음이 또한 당업계에서 이해된다. 특정 구체예에서, 인접 아미노산의 친수성에 의해 좌우되는 단백질의 최대 국부 평균 친수성은 이의 면역원성 및 항원성, 즉 단백질의 생물학적 특성과 상관관계가 있다.

[0104] 다음 친수성 값이 이러한 아미노산 잔기에 배정되었다: 아르기닌(+3.0); 리신(+3.0); 아스파르트산염(+3.0 $\pm$ 1); 글루타메이트(+3.0 $\pm$ 1); 세린(+0.3); 아스파라긴(+0.2); 글루타민(+0.2); 글리신(0); 트레오닌(-0.4); 프롤린(-0.5 $\pm$ 1); 알라닌(-0.5); 히스티딘(-0.5); 시스테인(-1.0); 메티오닌(-1.3); 발린(-1.5); 류신(-1.8); 이소루신(-1.8); 티로신(-2.3); 페닐알라닌(-2.5) 및 트립토판(-3.4). 유사한 친수성 값에 기초하여 변경을 수행함에 있어서, 특정 구체예에서 친수성 값이 ± 2 이내인 아미노산의 치환이 포함되고, 특정 구체예에서 ± 1 이내인 것이 포함되며, 특정 구체예에서 ± 0.5 이내의 것이 포함된다.

[0105] 예시적인 아미노산 치환은 표 2에 기재되어 있다.

표 2

아미노산 치환

[0106]

본래의 잔기	예시적 치환	바람직한 치환
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, Norleucine	Leu
Leu	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 Diamino-butyric Acid, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala, Gly	Ala
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, Norleucine	Leu

[0107] 본 발명에 비추어, 당업자는 공지된 기술을 사용하여 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 적합한 변이체를 결정할 수 있을 것이다. 특정 구체예에서, 당업자는 활성에 중요하지 않은 것으로 여겨지는 영역을

표적화함으로써 활성을 파괴하지 않고 변화될 수 있는 분자의 적합한 영역을 확인할 수 있다. 특정 구체예에서, 유사한 폴리펩타이드 사이에 보존된 분자의 잔기 및 부분을 확인할 수 있다. 특정 구체예에서, 생물학적 활성 또는 구조에 대해 중요할 수 있는 영역조차도 생물학적 활성을 파괴하지 않거나 폴리펩타이드 구조에 악영향을 미치지 않으면서 보존적 아미노산 치환을 받을 수 있다.

[0108] 또한, 당업자는 활성 또는 구조에 중요한 유사한 폴리펩타이드의 잔기를 확인하는 구조-기능 연구를 검토할 수 있다. 이러한 비교의 관점에서, 유사한 단백질의 활성 또는 구조에 중요한 아미노산 잔기에 해당하는 단백질의 아미노산 잔기의 중요성을 예측할 수 있다. 당업자는 이러한 예측된 중요한 아미노산 잔기에 대해 화학적으로 유사한 아미노산 치환을 선택할 수 있다.

[0109] 당업자는 또한 유사한 단백질 또는 단백질 도메인의 구조와 관련하여 3차원 구조 및 아미노산 서열을 분석할 수 있다. 그러한 정보에 비추어 볼 때, 당업자는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항체 또는 이의 항원 결합 단편, 또는 인터페론 또는 이의 기능성 단편의 3차원 구조와 관련하여 본원에 기재된 바와 같은 아미노산 잔기의 정렬을 예측할 수 있다. 특정 구체예에서, 당업자는 단백질의 표면 상에 있을 것으로 예상되는 아미노산 잔기에 라디칼 변화를 일으키지 않도록 선택할 수 있는데, 그 이유는 이러한 잔기가 다른 분자와의 중요한 상호작용에 포함될 수 있기 때문이다. 더욱이, 당업자는 각각의 원하는 아미노산 잔기에서 단일 아미노산 치환을 함유하는 시험 변이체를 생성할 수 있다. 그 다음, 변이체는 당업자에게 공지된 활성 분석을 사용하여 스크리닝될 수 있다. 이러한 변이체는 적합한 변형에 대한 정보를 수집하는 데 사용할 수 있다. 예를 들어, 특정 아미노산 잔기에 대한 변화가 파괴, 바람직하지 않은 감소 또는 부적합한 활성을 초래한다는 것을 발견한 경우 그러한 변화를 갖는 변이체를 피할 수 있다. 즉, 이러한 실험을 통해 수집된 정보를 바탕으로 당업자는 단독으로 또는 다른 돌연변이와 조합하여 추가 치환을 피해야 하는 아미노산을 쉽게 결정할 수 있다.

[0110] 특정 구체예에 따르면, 아미노산 치환은 (1) 단백질 분해에 대한 감수성을 감소시키고, (2) 산화에 대한 감수성을 감소시키며, (3) 단백질 복합체를 형성하기 위한 결합 친화성을 변경하고, (4) 결합 친화성을 변경하고 및/또는 (5) 그러한 폴리펩타이드에 다른 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여하거나 변형하는 것이다. 특정 구체예에 따르면, 단일 또는 다중 아미노산 치환(특정 구체예에서, 보존적 아미노산 치환)은 자연적으로 발생하는 서열(특정 구체예에서, 분자간 접촉을 형성하는 도메인(들) 외부의 폴리펩타이드 부분에서)에서 이루어질 수 있다. 특정 구체예에서, 보존적 아미노산 치환은 전형적으로 모 서열의 구조적 특징을 실질적으로 변화시키지 않을 수 있다(예를 들어, 대체 아미노산은 모 서열에서 발생하는 나선을 깨뜨리거나 모 서열을 특징짓는 다른 유형의 이차 구조를 파괴하는 경향이 있어서는 안된다). 당업계에서 인정하는 폴리펩타이드 2차 및 3차 구조의 예는 *Proteins, Structures and Molecular Principles* (Creighton, Ed., W. H. Freeman and Company, New York (1984)); *Introduction to Protein Structure* (C. Branden & J. Tooze, eds., Garland Publishing, New York, N.Y. (1991)); 및 Thornton *et al.*, *Nature*, 354:105 (1991)에 설명되어 있으며, 각각은 참고로 본원에 포함된다.

[0111] 용어 "유도체"는 아미노산(또는 핵산)의 삽입, 결실 또는 치환 이외의 화학적 변형을 포함하는 분자를 지칭한다. 특정 구체예에서, 유도체는 중합체, 지질, 또는 기타 유기 또는 무기 모이어티와의 화학적 결합을 포함하나 이에 제한되지 않는 공유적 변형을 포함한다. 특정 구체예에서, 화학적으로 변형된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 화학적으로 변형되지 않은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질보다 더 큰 순환 반감기를 가질 수 있다. 특정 구체예에서, 화학적으로 변형된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 원하는 세포, 조직, 및/또는 기관에 대한 개선된 표적화 능력을 가질 수 있다. 일부 구체예에서, 유도체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리옥시에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜을 포함하나 이에 제한되지 않는 하나 이상의 수용성 중합체 부착을 포함하도록 공유적으로 변형된다. 예를 들어, 미국 특허 번호: 4,640,835, 4,496,689, 4,301,144, 4,670,417, 4,791,192 및 4,179,337을 참조할 것. 특정 구체예에서, 유도체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 모노메톡시-폴리에틸렌 글리콜, 텍스트란, 셀룰로오스, 또는 기타 탄수화물 기반 중합체, 폴리-(N-비닐 피롤리돈)-폴리에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리올(예: 글리세롤) 및 폴리비닐 알코올, 뿐만 아니라 이러한 중합체의 혼합물을 포함하나 이에 제한되지 않는 하나 이상의 중합체를 포함한다.

[0112] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 유도체는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 서브유닛을 이용하여 공유적으로 변형된다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 수용성 중합체는 유도체의 하나 이상의 특정 위치, 예를 들어 아미노 말단에서 결합된다. 특정 구체예에서, 하나 이상의 수용성 중합체는 유도체의 하나 이상의 측쇄에 무작위로 부착된다. 특정 구체예에서, PEG는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 치료 능력을 개선하기 위해 사용된다. 이러한 특정 방법은 예를 들어, 미국 특허 제6,133,426호에서 논의되며, 이는 임의의

목적에 의해 참고로 본원에 포함된다.

- [0113] 특정 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 변이체는 글리코실화 변이체를 포함하되, 글리코실화 부위의 수 및/또는 유형은 모 폴리펩타이드의 아미노산 서열과 비교하여 변경된다. 특정 구체예에서, 단백질 변이체는 천연 단백질보다 더 많은 수의 N-연결된 글리코실화 부위를 포함한다. 다른 구체예에서, 단백질 변이체는 천연 단백질보다 적은 수의 N-연결된 글리코실화 부위를 포함한다. N-연결된 글리코실화 부위는 Asn-X-Ser 또는 Asn-X-Thr의 서열을 특징으로 하되, X로 표시된 아미노산 잔기는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 이 서열을 생성하기 위한 아미노산 잔기의 치환은 N-연결된 탄수화물 사슬의 추가를 위한 잠재적인 새로운 부위를 제공한다. 대안으로, 이 서열을 제거하는 치환은 기존의 N-연결된 탄수화물 사슬을 제거할 것이다. 또한, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 N-연결된 글리코실화 부위(전형적으로 자연적으로 발생하는 것)가 제거되고 하나 이상의 새로운 N-연결된 부위가 생성되는 N-연결된 탄수화물 사슬의 재배열이 제공된다. 추가의 바람직한 변이체는 모 아미노산 서열과 비교하여 하나 이상의 시스테인 잔기가 다른 아미노산(예를 들어, 세린)으로부터 결실되거나 치환된 시스테인 변이체를 포함한다. 시스테인 변이체는 불용성 봉입체를 분리한 후와 같이 항체를 생물학적 활성 형태로 다시 폴딩할 때 유용할 수 있다. 시스테인 변이체는 일반적으로 천연 단백질보다 적은 수의 시스테인 잔기를 가지며 일반적으로 짝을 이루지 않은 시스테인으로 인한 상호작용을 최소화하기 위해 짝수를 갖는다.
- [0114] HBV 및 HBV 마커
- [0115] 본원에 사용된 "B형 간염 바이러스" 또는 "HBV"는 B형 간염을 유발하는 이중 가닥 DNA 바이러스를 지칭하며, 이는 헤파드나바이러스라고 하는 밀접하게 관련된 DNA 바이러스 패밀리에 속한다. 헤파드나바이러스는 간 세포 감염에 대한 선호도가 높지만 소량의 헤파드나바이러스 DNA가 신장, 췌장 및 단핵 세포에서 발견될 수 있다. 그러나 이러한 부위의 감염은 간 외 질환과는 관련이 없다.
- [0116] HBV 비리온, 즉 Dane 입자는 외부 지질 외피와 단백질로 구성된 20면체 뉴클레오캡시드 코어로 구성된다. 뉴클레오캡시드는 바이러스 DNA와 레트로바이러스와 유사한 역전사효소 활성을 갖는 DNA 중합효소를 둘러싸고 있다. 외부 외피는 감수성 세포의 바이러스 결합 및 진입에 관여하는 내장된 단백질을 포함한다. 바이러스는 42 nm의 비리온 직경을 갖는 가장 작은 외피 동물 바이러스 중 하나이지만 코어가 없는 사상체 및 구형체를 포함하는 다형성 형태가 존재한다. 이 입자는 감염성이 없고 표면 항원(HBsAg)이라고 하는 비리온 표면의 일부를 형성하는 지질과 단백질로 구성되어 있으며 바이러스의 생활사 동안 과도하게 생성된다. HBV는 HBsAg, HBcAg(및 이의 스플라이스 변이체 HBeAg), DNA 중합효소 및 Hbx를 포함한다. HBV는 복제 과정의 일부로 역전사를 사용하는 몇 가지 알려진 비-레트로바이러스성 바이러스 중 하나이다.
- [0117] HBV 뉴클레오캡시드는 비교적 작고 부분적으로 이중인 3.2kb 원형 DNA, 바이러스 중합효소 및 코어 단백질을 포함한다. 게놈에는 단 4개의 긴 오픈리딩프레임이 있다. 게놈의 pre-S-S(pre-surface-surface) 영역은 3개의 프레임 내 개시 코돈 각각에서 번역의 차등 개시에 의해 3개의 바이러스 표면 항원을 인코딩한다.
- [0118] HBV의 가장 풍부한 단백질은 24kD S 단백질(HBsAg로 알려짐)이다. pre-C-C(pre-core-core) 영역은 HBcAg(HBV core Antigen) 및 HBeAg(HBV e Antigen)을 인코딩한다. HBeAg는 바이러스 복제에 필요하지 않으며 바이러스 조립에서 역할을 하지는 않지만 그럼에도 불구하고 활성 바이러스 복제의 유용한 지표이다. HBeAg는 HBV에 감염된 간세포에서 분비되기 때문에 표준 진단 검사(예를 들어, ELISA)를 통해 혈액에서 검출할 수 있으므로 바이러스성 HBV 감염에 대한 실험실 표지자로 사용된다(Testoni et al., Serum hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA. J. Hepatol. 2019, 70, 615-625. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2018.11.030>).
- [0119] P-코딩 영역은 DNA 합성 및 RNA 캡슐화에 관여하는 다기능 효소인 바이러스 중합효소에 특이적이다. X 오픈리딩 프레임은 숙주 세포 신호 전달을 조절하고 숙주 및 바이러스 유전자 발현에 직간접적으로 영향을 미칠 수 있는 바이러스 X 단백질(HBx)을 인코딩한다.
- [0120] HBV의 생활사는 바이러스가 외피 단백질을 통해 숙주 세포막에 부착될 때 시작되는 것으로 믿어진다. HBV는 HBV 감염의 초기 단계로서 큰 외피 단백질의 pre-S1 도메인을 통해 인간 간세포에서 주로 발견되는 세포막의 수용체에 결합하는 것으로 제안되었다. 그러나 수용체의 특성은 여전히 논란의 여지가 있다. 그런 다음 바이러스 막이 세포막과 융합되고 바이러스 게놈이 세포 내로 방출된다.
- [0121] HBV의 복제는 호르몬, 성장 인자 및 사이토카인을 포함한 다양한 요인에 의해 조절될 수 있다. 바이러스 게놈이 핵에 도달한 후 세포 DNA 복구 기계는 부분 이중 가닥 DNA(dsDNA, 이완된 원형 HBV DNA(rcDNA)라고도 함), 게놈

을 공유적으로 폐쇄된 원형 DNA(cccDNA)로 변환한다. 생성된 cccDNA는 pre-genomic RNA 및 sub-genomic RNA의 추가 전사를 위한 숙주 RNA Pol-II의 주형이다(Allweiss L and Dandri M, The Role of cccDNA in HBV Maintenance. *Viruses* 2017, 9(6):156; doi:10.3390/v9060156; Nur K. Mohd-Ismail, Zijie Lim, Jayantha Gunaratne and Yee-Joo Tan, Mapping the Interactions of HBV cccDNA with Host Factors. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20(17):4276; doi:10.3390/ijms20174276).

[0122] pre-genomic RNA는 바이러스 DNA 합성을 위한 주형과 pre-C, C 및 P 번역을 위한 메신저 역할을 하는 이중기능적이다. 서브게놈 RNA는 외피와 X 단백질의 번역에만 독점적으로 기능을 한다. 모든 바이러스 RNA는 세포질로 운반되며, 여기에서 그것의 번역은 HBx 및 HBcAg뿐 아니라 바이러스 외피, 코어 및 중합효소 단백질을 생성한다.

[0123] HBV 코어 입자는 세포질에서 조립되고 이 과정에서 단일 분자의 pre-genomic RNA가 조립되는 바이러스 코어에 통합된다. 바이러스 RNA가 캡슐화되면 역전사가 시작된다. 2개의 바이러스 DNA 가닥의 합성은 순차적이다. 첫 번째 DNA 가닥은 캡슐화된 RNA 주형으로 만들어진다. 이 가닥의 합성 중 또는 합성 후에 RNA 주형이 분해되고 새로 만들어진 첫 번째 DNA 가닥을 주형으로 사용하여 두 번째 DNA 가닥의 합성이 진행된다. 성숙한 게놈을 포함하는 일부 코어는 핵으로 다시 수송되며, 여기서 새로 생성된 DNA 게놈은 전사 주형의 안정적인 핵내 풀을 유지하기 위해 cccDNA로 변환될 수 있다.

[0124] HBV 표면 항원(HBsAg) 단백질은 초기에 조면 소포체에서 합성되고 중합된다. 이 단백질은 post-ER 및 pre-Golgi 구획으로 수송되어 뉴클레오캡시드의 버딩이 이어진다. 조립된 HBV 비리온 및 서브-바이러스 입자는 표면 단백질의 글리칸의 추가 변형을 위해 골지체로 수송된 다음 숙주 세포 밖으로 분비되어 생활사를 완료한다.

[0125] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템, 방법 및 조성물은 HBV 감염을 치료하는데 사용될 수 있다. 본원에 사용된 "HBV 감염을 치료하다" 및 "HBV 감염 치료"는 (i) HBV 바이러스 로딩/바이러스 역가 감소; (ii) cccDNA의 전사 감소; (iii) 세포에서 프리게놈 RNA의 수준의 감소; (iv) 하나 이상의 HBV-관련 장애 감소; 및 (v) 대상체에서 하나 이상의 HBV-관련 증상의 감소 중 하나 이상을 지칭한다.

[0126] 용어 "바이러스 로딩" 및 "바이러스 역가"는 세포, 기관 또는 혈액 또는 혈청과 같은 체액에서의 바이러스 입자의 수를 지칭한다. 바이러스 로딩 또는 바이러스 역가는 종종 분석 유형에 따라 바이러스 입자 또는 mL당 감염 입자로 표현된다. 오늘날 바이러스 양은 일반적으로 밀리리터당 국제 단위(IU/mL)를 사용하여 측정된다. 바이러스 로딩 또는 바이러스 역가는 대안으로 소위 바이러스 게놈 등가물로서 결정될 수 있다. 더 높은 바이러스 부하, 역가 또는 바이러스 로딩은 종종 활성 바이러스 감염의 중증도와 상관관계가 있다. 따라서, 바이러스 로딩 또는 바이러스 역가를 감소시키는 것은 예를 들어 혈청에서 감소된 수의 감염성 바이러스 입자와 상관관계가 있다. 바이러스 로딩은 일반적으로 핵산 증폭 기반 검사(NAT 또는 NAAT)를 사용하여 결정된다. NAT/NAAT 테스트는 예를 들어 PCR, (정량적) 역전사 중합효소 연쇄 반응(RT-PCR 또는 qRT-PCR), 핵산 서열 기반 증폭(NASBA) 또는 프로브 기반 분석을 활용한다. B형 간염 바이러스 DNA 정량화를 위한 실시간 PCR 분석은 예를 들어 Liu et al., *Virol J* 14, 94 (2017) doi:10.1186/s12985-017-0759-8에 설명되어 있다. PCR을 사용하여 바이러스 DNA를 쉽게 검출할 수 있기 때문에 바이러스 로딩은 치료 중 성공을 모니터링하는 임상 환경에서 유용하다. >10,000 copies/mL(2,000 IU/mL)의 바이러스 로딩은 HBeAg 상태와 무관하게 간세포 암종의 강력한 위험 예측인자이다.

[0127] "환자" 및 "대상체"라는 용어는 상호교환적으로 사용되며 인간 및 비인간 동물 대상체, 바람직하게는 인간 대상체 뿐만 아니라 공식적으로 진단된 장애를 가진 사람들, 공식적으로 인정된 장애가 없는 사람들, 진료를 받고 있는 사람들, 장애를 나타낼 위험이 있는 사람들 등을 포함한다.

[0128] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템, 방법 및 조성물은 HBV-감염 세포에서 HBV 바이러스 로딩/바이러스 역가를 감소시키기 위해 사용될 수 있다(예를 들어 세포 배양에서, HBV-감염 기관 또는 HBV-감염 환자에서). HBV 바이러스 로딩/바이러스 역가는 처리되지 않은 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 동일한 환자와 비교하여 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%로 감소될 수 있다. 일부 구체예에서, HBV 바이러스 로딩/바이러스 역가는 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%로 감소된다. 바람직하게는, HBV 바이러스 로딩/바이러스 역가는 적어도 35%, 보다 바람직하게는 적어도 50%까지 감소된다. 일부 구체예에서, 바이러스 로딩/바이러스 역가는 PCR 또는 qRT-PCR에 의해 결정된다.

- [0129] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템, 방법 및 조성물은 HBV-감염 세포에서 HBV cccDNA의 전사를 감소시키기 위해 사용될 수 있다(예를 들어 세포 배양에서, HBV-감염 기관 또는 HBV-감염 환자에서). cccDNA 전사는 처리되지 않은 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 동일한 환자와 비교하여 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 만큼 감소될 수 있다. 일부 구체예에서, HBV cccDNA의 전사는 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%로 감소된다. 바람직하게는, HBV cccDNA의 전사는 적어도 35%, 보다 바람직하게는 적어도 50%까지 감소된다. 일부 구체예에서, HBV cccDNA의 전사는 PCR 또는 qPCR에 의해 결정된다.
- [0130] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템, 방법 및 조성물은 HBV-감염 세포에서 프리게놈 HBV RNA의 수준을 감소시키기 위해 사용될 수 있다(예를 들어 세포 배양에서, HBV-감염 기관 또는 HBV-감염 환자에서). 프리게놈 HBV RNA 수준은 처리되지 않은 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 동일한 환자와 비교하여 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%로 감소될 수 있다. 일부 구체예에서, 프리게놈 HBV RNA의 수준은 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 35%, 적어도 40%, 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95%로 감소된다. 바람직하게는, 프리게놈 HBV RNA의 수준은 적어도 35%, 더 바람직하게는 적어도 50%까지 감소된다. 일부 구체예에서, 프리게놈 HBV RNA의 수준은 qRT-PCR에 의해 결정된다.
- [0131] 본원에 사용된 "HBV-관련 장애"는 HBV에 의한 대상체의 감염으로 인해 발생하는 장애를 지칭한다. HBV-관련 장애에는 급성 간염, 만성 간염, 황달 간염, 전격성 간염, 아전격성 간염 및 이들 장애 중 어느 하나로 인한 증상 및/또는 합병증을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0132] 본원에 사용된 "HBV-관련 증상", "HBV 감염의 증상" 또는 "HBV-관련 합병증"은 HBV 감염과 관련된 하나 이상의 신체 기능장애를 포함한다. HBV 증상 및 합병증에는 간경변증, 간세포암종(HCC), 막성 사구체신염(MGN), 사망, 급성 괴사성 혈관염(결절성 다발동맥염), 막성 사구체신염, 소아의 구진 선체염(Gianotti-Crosti 증후군), HBV-관련 신병증(예를 들어, 막성 사구체신염), 면역-매개 혈액 장애(예: 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 재생불량성 빈혈), 문맥 고혈압, 복수, 뇌병증, 황달, 가려움증, 하안변, 지방변, 결절 다발동맥염, 사구체 질환, ALT 수치 이상, AST 수치 이상, 비정상적인 알칼리성 포스파타제 수치, 빌리루빈 수치 증가, 식욕 부진, 권태감, 발열, 메스꺼움, 구토 등이 포함되나 이에 제한되지 않는다.
- [0133] 인터페론
- [0134] 본원에 사용된 "인터페론" 또는 "IFN"은 병원체 또는 종양 세포의 존재에 반응하여 세포에 의해 전형적으로 생성 및 방출되는 사이토카인 또는 이의 유도체를 지칭한다. IFN은 I형 IFN(예: IFN α , IFN β , IFN ϵ , IFN κ , IFN τ , IFN ζ 및 IFN ω), II형 IFN(예: IFN γ) 및 III형 IFN(예: IFN λ 1, IFN λ 2 및 IFN λ 3)을 포함한다. 용어 "인터페론" 또는 "IFN"은 제한 없이 전장 IFN, 이의 변이체 또는 유도체(예를 들어, 화학적으로(예컨대, 폐길화) 변형된 유도체 또는 퓨테인), 또는 전장 IFN의 하나 이상의 신호전달 활성을 유지하는 이의 기능적으로 활성인 단편을 포함하나 이에 제한되지 않는다.
- [0135] 본원에 사용된 용어 "기능성 단편"은 원래 물질의 하나 이상의 기능적 활성을 보유하는 물질의 단편을 지칭한다. 예를 들어, 인터페론의 기능성 단편은 예를 들어, IFN 경로 신호전달을 매개하는, 본원에 기재된 바와 같은 IFN 기능을 유지하는 인터페론의 단편을 지칭한다.
- [0136] IFN은 동족 IFN 수용체(IFN α 에 대한 IFNAR, IFN β 에 대한 IFNBR 등)를 발현하는 세포, 조직 또는 유기체에 첨가될 때 하나 이상의 IFN 수용체 활성을 적어도 약 20% 증가시킬 수 있다. 일부 구체예에서, 인터페론은 IFN 수용체 활성을 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 85%로 활성화시킨다. IFN의 활성(즉, "IFN 활성")은 예를 들어 시험관내 리포터 세포 분석, 예를 들어, 실시예 I에 더 자세히 설명되어 있는 바와 같이, HEK-Blue™ IFN- α/β 세포(InvivoGen, Cat.#: hkb-ifn $\alpha\beta$), HEK-Blue™ IFN- λ (InvivoGen, Cat.#: hkb-ifn λ) 또는 HEK-Blue™ Dual IFN- γ 세포(InvivoGen, Cat.#: hkb-ifng)를 이용하여 측정될 수 있다. 이러한 리포터 세포는 HEK293 세포를 인간 IFN 수용체 유전자 및 IFN 자극 반응 요소 제어 분배아 알칼리 인산분해효소(SEAP) 구조로 안정적으로 형질감염시켜 IFN의 활성을 측정함으로써 생성되었다. HEK-Blue™ IFN-세포는 I형, II형 또는 III형 인터페론에 의해 유도된 JAK/STAT/ISGF3 경로의 활성화를 모니터링하

도록 설계되었다. 이러한 경로의 활성화는 SEAP의 생성 및 방출을 유도한다.

- [0137] 본 발명의 맥락에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 CD40 및 IFN 경로 둘 다를 활성화한다. 특정 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 100, 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 1 ng/mL 미만의 EC₅₀, 바람직하게는 11 ng/mL 미만의 EC₅₀, 더욱 바람직하게는 6 ng/mL 미만의 EC₅₀으로 IFN 경로를 활성화한다. 이들 구체예 중 일부에서, IFN 경로는 IFN α (인터페론 알파), IFN β (인터페론 베타), IFN ϵ (인터페론 엡실론), IFN ω (인터페론 오메가), IFN γ (인터페론 감마), 또는 IFN λ (인터페론 람다) 경로이다.
- [0138] 특정 예시적 구체예에 따르면, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 전장 IFN, 이의 변이체 또는 유도체(예를 들어, 화학적으로(예컨대, 폐길화) 변형된 유도체 또는 뮤테인), 또는 전장 IFN의 하나 이상의 신호전달 활성을 유지하는 이의 기능적으로 활성인 단편을 포함한다. 특정 구체예에서, IFN은 인간 IFN이다.
- [0139] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 I형 IFN, II형 IFN 및 III형 IFN으로 구성된 군, 또는 이들의 기능성 단편에서 선택된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.
- [0140] 특정 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 I형 IFN 또는 이의 기능성 단편이다. 특정 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α , IFN β 또는 IFN ϵ , 또는 이들의 기능성 단편이다. 보다 구체적인 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편이다. 다른 보다 구체적인 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 이의 기능성 단편이다. 다른 보다 구체적인 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이다. 다른 보다 구체적인 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN ω 또는 이의 기능성 단편이다. 다른 보다 구체적인 구체예에서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN ϵ 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0141] 특정 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α , IFN β , IFN γ , IFN λ , IFN ϵ 또는 IFN ω , 또는 이들의 기능성 단편이다. 특정 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0142] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 이의 기능성 단편이다. 보다 구체적인 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 2a 또는 이의 기능성 단편이다. IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함할 수 있다.
- [0143] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함할 수 있다. IFN β 또는 이의 기능성 단편은 SEQ ID NO: 14에 대해 C17S 및 N80Q로부터 선택된 1개 또는 2개의 아미노산 치환(들)을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, IFN β 또는 이의 기능성 단편은 SEQ ID NO: 14에 대해 아미노산 치환 C17S를 포함한다. 일부 구체예에서, IFN β 는 SEQ ID NO: 15에 기재된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 대해 아미노산 치환 C17S 및 N80Q를 포함한다. 또 다른 구체예에서, IFN β 는 SEQ ID NO: 16에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0144] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN γ 또는 IFN λ , 또는 이들의 기능성 단편이다. 특정 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN γ 또는 이의 기능성 단편이다. 보다 구체적인 구체예에서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다. 다른 특정 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN λ 또는 이의 기능성 단편이다. 보다 구체적인 구체예에서, IFN λ 또는 이의 기능성 단편은 IFN λ 2 또는 이의 기능성 단편이다. IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함할 수 있다.
- [0145] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN ϵ 또는 이의 기능성 단편이다. IFN ϵ 는 SEQ ID NO: 61에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함할 수 있다.
- [0146] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN ω 또는 이의 기능성 단편이다. IFN ω 는 SEQ ID NO: 60에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함할 수 있다.
- [0147] 특정 구체예에서, 하나 이상의 IFN 신호전달 경로 바이오마커의 발현 수준은 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리된 HBV-감염 세포에서 변경, 즉, 상향조절 또는 하향조절된다. 특정 예시적 구체예에 따르면, 하나 이상의 IFN 경로 바이오마커의 발현 수준은 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리된 HBV-감염 세포에서 상향조절된다. 이러한 맥락에서, "바이오마커"는 정상적인 생물학적 과정, 병원성 과정

또는 치료 개입에 대한 약리학적 반응의 지표로서 객관적으로 측정되고 평가되는 특성으로 이해되어야 한다.

[0148] 특정 구체예에 따르면, 본원에서 특징으로 하는 적합한 IFN 경로 바이오마커는 CXCL9, CXCL10 및 CXCL11로 구성된 군에서 선택된 케모카인, 예를 들어 C-X-C 케모카인이다. 특정 예시적 구체예에서, IFN 경로에 의해 유도된 적합한 바이오마커는 CXCL9, CXCL10 및/또는 CXCL11, 및 또한 인터페론 자극된 유전자 ISG20이다. 사이토카인 유도 또는 방출은 ELISA와 같은 당업계에 공지된 기술을 사용하여 정량화될 수 있다. 대안으로, 유도는 RNAseq 또는 qRT-PCR과 같은 RNA 기반 분석을 사용하여 결정할 수도 있다. 특정 구체예에서, 상향조절은 이들 사이토카인의 적어도 1.5-배, 적어도 2-배, 적어도 2.5-배, 적어도 3-배, 적어도 4-배, 적어도 5-배 또는 적어도 10-배 증가된 발현 또는 분비를 지칭한다.

[0149] 이들 또는 다른 예시적인 구체예에서, 전염증성 사이토카인, 예를 들어 IL10, IL1 β 및/또는 IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 인간 전혈 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL10의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 인간 전혈 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL1 β 의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 인간 전혈 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL1 β 의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 인간 전혈 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL10 및 IL1 β 의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL10 및 IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL10 및 IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL1 β 및 IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다. 일부 구체예에서, IL10, IL1 β 및 IL2의 발현 수준은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다.

[0150]

[0151] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질

[0152] 본원에 사용된 용어 "결합된(associated)"은 일반적으로 2개(또는 그 이상) 분자의 공유 또는 비공유 결합을 지칭한다. 결합된 단백질은 2개 이상의 별개의 펩타이드 또는 단백질을 연결하여 생성되며, 결과적으로 원래 단백질 각각에서 파생된 하나 이상의 기능적 특성을 가진 단백질이 생성된다. 본 발명의 맥락에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 CD40 및 IFN 경로 둘 다를 활성화한다. 결합된 단백질은 별개의 결합된 또는 융합된 단백질의 단량체 및 다량체, 예를 들어, 이량체, 삼량체, 사량체 등 복합체를 포함한다. 이러한 맥락에서, 비공유 결합은 일반적으로 이온, 반데르발스 및/또는 수소 결합 상호작용을 통해 두 단백질 표면 영역 사이의 강한 상호작용으로 인해 발생한다. 반면에 공유 결합은 펩타이드 결합, 이황화 브릿지 등과 같은 실제 화학 결합의 존재를 필요로 한다. 본원에 사용된 용어 "융합된"은 일반적으로 펩타이드 결합을 통해 공유 방식으로 2개 이상의 별개의 펩타이드 또는 단백질의 연결을 지칭한다. 따라서, "융합된 단백질"은 각각의 원래 단백질로부터 유래된 하나 이상의 기능적 특성을 갖는 펩타이드 결합을 통해 2개 이상의 별개의 펩타이드 또는 단백질을 연결함으로써 생성된 단일 단백질을 지칭한다. 특정 구체예에서, 2개 이상의 별개의 펩타이드 또는 단백질은 하나 이상의 펩타이드 링커("L")를 통해 서로 융합될 수 있다.

[0153] 본 발명의 모든 양태에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 단백질이다.

[0154] 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 비공유적으로 결합된다. 보다 구체적인 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 이온, 반데르발스 및/또는 수소 결합 상호작용을 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 비공유적으로 결합된다.

[0155] 다른 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 공유적으로 결합된다. 바람직한 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합된다. IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된다. 다른 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항

-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된다. IFN 또는 이의 기능성 단편은 또한 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합될 수 있다. 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 융합된다. 다른 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된다. 이들 구체예 중 임의의 것에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 이의 기능성 단편은 링커를 통해 서로 융합될 수 있다.

[0156] 본원에 사용된 용어 "링커" 또는 "L"은 하나 이상의 인터페론 또는 이의 기능성 단편에 하나 이상의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 공유적으로 연결하는 임의의 모이어티를 지칭한다. 예시적인 구체예에서, 링커는 펩타이드 링커이다. 본원에 사용된 용어 "펩타이드 링커"는 2개 이상의 부분을 연결하도록 변경된 펩타이드를 지칭한다. 본원에서 언급된 펩타이드 링커는 하기에 약술된 특성 중 하나 이상을 가질 수 있다. 특정의 예시적인 구체예에 따른 펩타이드 링커의 서열은 표 7에 제시되어 있다.

[0157] 펩타이드 링커는 임의의 길이, 즉 임의의 수의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 예시적인 구체예에서, 링커는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개의 아미노산을 포함한다. 링커는 적어도 4개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 11개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 12개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 13개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 15개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 20개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 21개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 적어도 24개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0158] 링커는 일반적으로 연결된 모이어티가 서로의 활성, 예를 들어 수용체에 결합하는 모이어티의 능력을 방해하는 것을 방지하기에 적절한 정도의 유연성을 제공하기에 충분히 길다. 예시적인 구체예에서, 링커는 최대 10, 최대 20, 최대 30, 최대 40, 최대 50, 최대 60, 최대 70, 최대 80, 최대 90, 또는 최대 100개의 아미노산을 포함한다. 링커는 최대 80개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 40개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 24개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 21개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 20개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 15개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 13개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 12개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 11개의 아미노산을 포함할 수 있다. 링커는 최대 4개의 아미노산을 포함할 수 있다.

[0159] 일부 구체예에서, 링커는 강성, 가요성 및/또는 나선-형성 링커를 포함하는 군에서 선택된다. α -나선은 더 무작위한 코일 구조를 가정하는 펩타이드보다 자유도가 낮기 때문에 나선-형성 링커는 또한 강성 링커일 수 있다. 는 것이 이해된다. 일부 구체예에서, 링커는 강성 링커이다. 예시적인 강성 링커는 SEQ ID NO: 20에 기재된 서열을 포함한다. 추가의 예시적인 강성 링커는 SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다. 관련된 구체예에서, 링커는 나선-형성 링커이다. 예시적인 나선-형성 링커는 SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, 링커는 가요성 링커이다. 예시적인 가요성 링커는 SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.

[0160] 링커는 또한 다른 화학적 특성을 가질 수 있다. 링커는 산성, 염기성 또는 중성 링커로부터 선택될 수 있다. 일반적으로 산성 링커는 Asp 또는 Glu와 같은 하나 이상의 산성 아미노산을 포함한다. 염기성 링커는 일반적으로 Arg, His 및 Lys와 같은 하나 이상의 염기성 아미노산을 포함한다. 두 유형의 아미노산 모두 매우 친수성이다. 일부 구체예에서, 링커는 산성 링커이다. 예시적인 산성 링커는 SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, 링커는 염기성 링커이다. 또 다른 구체예에서, 링커는 중성 링커이다. 예시적인 중성 링커는 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.

[0161] 바람직한 구체예에서, 링커는 Gly-Ser 또는 다수의 글리신, 세린 및 적용 가능한 경우 트레오닌 잔기로 구성된 Gly-Ser-Thr 링커이다. 이들 구체예 중 일부에서, 링커는 아미노산 글리신 및 세린을 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 링커는 아미노산 트레오닌을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 21에 기재된 서열을 포함한다.

[0162] 본 발명의 예시적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NOs: 20 내지 26에 기재된 서열, 바람직하게는 SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열에서 선택된 서열을 포함하는 링커를 포함한다. 바람직한 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 24에 기재된 서열을 포함한다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO: 25에 기재된 서열을 포함한다. 또 다른 바람직한 구체예에서, 링커는 SEQ ID NO:

26에 기재된 서열을 포함한다.

[0163] 본 발명의 양태 중 어느 하나의 다양한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 (I) 상기 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편 및 (II) 상기 IFN 또는 이의 기능성 단편을 형성하는 것 이외의 아미노산은 포함하지 않는다. 관련된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 (I) 상기 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, (II) 상기 IFN 또는 이의 기능성 단편 및 (III) 상기 링커를 형성하는 것 이외의 아미노산은 포함하지 않는다.

[0164] (I) 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, (II) 인터페론(IFN) 또는 이의 기능성 단편 및 (III) 링커의 다양한 상이한 배열을 나타내는 예시적인 구체예가 하기에 요약되어 있다.

[0165] 특정 바람직한 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 표 3A 또는 표 3B에 기재된 바와 같이 링커를 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된다. 이들 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 49에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β _C17S는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β _C17S,N80Q는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ϵ 은 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ω 은 SEQ ID NO: 79에 기재된 서열을 포함할 수 있다. 언급된 링커는 표 7에 나열된 것들이다.

[0166] IFN이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체의 경쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 49에 기재된 서열을 포함하고, 경쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다.

표 3

항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된 인터페론 또는 이의 기능성 단편

A	IFN α 2a	IFN β	IFN β _C17S	IFN β _C17S,N80Q	IFN γ	IFN λ 2
RL 링커	항CD40_HC-RL-IFN α 2a	항CD40_HC-RL-IFN β	항CD40_HC-RL-IFN β _C17S	항CD40_HC-RL-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-RL-IFN γ	항CD40_HC-RL-IFN λ 2
GST 링커	항CD40_HC-GST-IFN α 2a	항CD40_HC-GST-IFN β	항CD40_HC-GST-IFN β _C17S	항CD40_HC-GST-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-GST-IFN γ	항CD40_HC-GST-IFN λ 2
HL 링커	항CD40_HC-HL-IFN α 2a	항CD40_HC-HL-IFN β	항CD40_HC-HL-IFN β _C17S	항CD40_HC-HL-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-HL-IFN γ	항CD40_HC-HL-IFN λ 2
HL2 링커	항CD40_HC-HL2-IFN α 2a	항CD40_HC-HL2-IFN β	항CD40_HC-HL2-IFN β _C17S	항CD40_HC-HL2-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-HL2-IFN γ	항CD40_HC-HL2-IFN λ 2
(G4S)2 링커	항CD40_HC-(G4S)2-IFN α 2a	항CD40_HC-(G4S)2-IFN β	항CD40_HC-(G4S)2-IFN β _C17S	항CD40_HC-(G4S)2-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-(G4S)2-IFN γ	항CD40_HC-(G4S)2-IFN λ 2
(G4S)3 링커	항CD40_HC-(G4S)3-IFN α 2a	항CD40_HC-(G4S)3-IFN β	항CD40_HC-(G4S)3-IFN β _C17S	항CD40_HC-(G4S)3-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-(G4S)3-IFN γ	항CD40_HC-(G4S)3-IFN λ 2
(G4S)4 링커	항CD40_HC-(G4S)4-IFN α 2a	항CD40_HC-(G4S)4-IFN β	항CD40_HC-(G4S)4-IFN β _C17S	항CD40_HC-(G4S)4-IFN β _C17S,N80Q	항CD40_HC-(G4S)4-IFN γ	항CD40_HC-(G4S)4-IFN λ 2

B	IFN ϵ	IFN ω
RL 링커	항CD40_HC-RL-IFN ϵ	항CD40_HC-RL-IFN ω
GST 링커	항CD40_HC-GST-IFN ϵ	항CD40_HC-GST-IFN ω
HL 링커	항CD40_HC-HL-IFN ϵ	항CD40_HC-HL-IFN ω
HL2 링커	항CD40_HC-HL2-IFN ϵ	항CD40_HC-HL2-IFN ω
(G4S)2 링커	항CD40_HC-(G4S)2-IFN ϵ	항CD40_HC-(G4S)2-IFN ω
(G4S)3 링커	항CD40_HC-(G4S)3-IFN ϵ	항CD40_HC-(G4S)3-IFN ω
(G4S)4 링커	항CD40_HC-(G4S)4-IFN ϵ	항CD40_HC-(G4S)4-IFN ω

[0167]

[0168] 특정 바람직한 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 표 4A 또는 표 4B에 기재된 바와 같이 링커를 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 융합된다. 이들 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β _C17S는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β _C17S,N80Q는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN λ 2는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ϵ 은 SEQ ID NO: 61에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ω 은 SEQ ID NO: 60에 기재된 서열을 포함할 수 있다. 언급된 링커는 표 7에 나열된 것들이다.

[0169] IFN이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 융합된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체의 경쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열을 포함하고, 경쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다.

표 4

항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 융합된 인터페론 또는 이의 기능성 단편

A	IFN α2a	IFN β	IFN β_C17S	IFN β_C17S,N80Q	IFN γ	IFN λ2
RL 링크	IFN α2a-RL-항CD40 _{HC}	IFN β-RL-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-RL-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-RL-항CD40 _{HC}	IFN γ-RL-항CD40 _{HC}	IFN λ2-RL-항CD40 _{HC}
GST 링크	IFN α2a-GST-항CD40 _{HC}	IFN β-GST-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-GST-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-GST-항CD40 _{HC}	IFN γ-GST-항CD40 _{HC}	IFN λ2-GST-항CD40 _{HC}
HL 링크	IFN α2a-HL-항CD40 _{HC}	IFN β-HL-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-HL-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-HL-항CD40 _{HC}	IFN γ-HL-항CD40 _{HC}	IFN λ2-HL-항CD40 _{HC}
HL2 링크	IFN α2a-HL2-항CD40 _{HC}	IFN β-HL2-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-HL2-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-HL2-항CD40 _{HC}	IFN γ-HL2-항CD40 _{HC}	IFN λ2-HL2-항CD40 _{HC}
(G4S)2 링크	IFN α2a-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN β-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN γ-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN λ2-(G4S)2-항CD40 _{HC}
(G4S)3 링크	IFN α2a-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN β-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN γ-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN λ2-(G4S)3-항CD40 _{HC}
(G4S)4 링크	IFN α2a-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN β-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN β_C17S,N80Q-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN γ-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN λ2-(G4S)4-항CD40 _{HC}

B	IFN ε	IFN ω
RL 링크	IFN ε-RL-항CD40 _{HC}	IFN ω-RL-항CD40 _{HC}
GST 링크	IFN ε-GST-항CD40 _{HC}	IFN ω-GST-항CD40 _{HC}
HL 링크	IFN ε-HL-항CD40 _{HC}	IFN ω-HL-항CD40 _{HC}
HL2 링크	IFN ε-HL2-항CD40 _{HC}	IFN ω-HL2-항CD40 _{HC}
(G4S)2 링크	IFN ε-(G4S)2-항CD40 _{HC}	IFN ω-(G4S)2-항CD40 _{HC}
(G4S)3 링크	IFN ε-(G4S)3-항CD40 _{HC}	IFN ω-(G4S)3-항CD40 _{HC}
(G4S)4 링크	IFN ε-(G4S)4-항CD40 _{HC}	IFN ω-(G4S)4-항CD40 _{HC}

[0170]

[0171] 특정 바람직한 구체예에서, IFN은 표 5A 또는 표 5B에 기재된 바와 같이 링커를 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된다. 이들 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체의 경쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 제시된 서열을 포함할 수 있다. IFN α2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함할 수 있고, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16. IFN β는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN βC17S는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN βC17S,N80Q는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN γ는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β2는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ε는 SEQ ID NO: 61에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β는 SEQ ID NO: 60에 기재된 서열을 포함할 수 있다. 언급된 링커는 표 7에 나열된 링커이다.

[0172] IFN이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체의 중쇄, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 경쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함하고, 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50 또는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열을 포함한다.

표 5

항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된 인터페론 또는 이의 기능성 단편

A	IFN α2a	IFN β	IFN β_C17S	IFN β_C17S,N80Q	IFN γ	IFN λ2
RL 링크	항CD40 _{LC} -RL-IFN α2a	항CD40 _{LC} -RL-IFN β	항CD40 _{LC} -RL-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -RL-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -RL-IFN γ	항CD40 _{LC} -RL-IFN λ2
GST 링크	항CD40 _{LC} -GST-IFN α2a	항CD40 _{LC} -GST-IFN β	항CD40 _{LC} -GST-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -GST-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -GST-IFN γ	항CD40 _{LC} -GST-IFN λ2
HL 링크	항CD40 _{LC} -HL-IFN α2a	항CD40 _{LC} -HL-IFN β	항CD40 _{LC} -HL-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -HL-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -HL-IFN γ	항CD40 _{LC} -HL-IFN λ2
HL2 링크	항CD40 _{LC} -HL2-IFN α2a	항CD40 _{LC} -HL2-IFN β	항CD40 _{LC} -HL2-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -HL2-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -HL2-IFN γ	항CD40 _{LC} -HL2-IFN λ2
(G4S)2 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN α2a	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN β	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN γ	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN λ2
(G4S)3 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN α2a	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN β	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN γ	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN λ2
(G4S)4 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN α2a	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN β	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN β_C17S	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN β_C17S,N80Q	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN γ	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN λ2

B	IFN ε	IFN ω
RL 링크	항CD40 _{LC} -RL-IFN ε	항CD40 _{LC} -RL-IFN ω
GST 링크	항CD40 _{LC} -GST-IFN ε	항CD40 _{LC} -GST-IFN ω
HL 링크	항CD40 _{LC} -HL-IFN ε	항CD40 _{LC} -HL-IFN ω
HL2 링크	항CD40 _{LC} -HL2-IFN ε	항CD40 _{LC} -HL2-IFN ω
(G4S)2 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN ε	항CD40 _{LC} -(G4S)2-IFN ω
(G4S)3 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN ε	항CD40 _{LC} -(G4S)3-IFN ω
(G4S)4 링크	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN ε	항CD40 _{LC} -(G4S)4-IFN ω

[0173]

[0174] 특정 바람직한 구체예에서, IFN은 표 6A 또는 표 6B에 명시된 바와 같이 링커를 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된다. 이들 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체의 경쇄, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 제시된 서열을 포함할 수 있다. IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β C17S는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN β C17S,N80Q는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ϵ 은 SEQ ID NO: 61에 기재된 서열을 포함할 수 있다. IFN ω 은 SEQ ID NO: 60에 기재된 서열을 포함할 수 있다. 언급된 링커는 표 7에 나열된 링커이다.

[0175] IFN이 작용제 항-CD40 항체, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체의 중쇄, 또는 이의 작용제 항원 결합 단편을 추가로 포함한다. 보다 구체적인 구체예에서, 중쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함하고, 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 12 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열을 포함한다.

표 6

항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된 인터페론 또는 이의 기능성 단편

A	IFN α 2a	IFN β	IFN β _C17S	IFN β _C17S,N80Q	IFN γ	IFN λ 2
RL 링커	IFN α 2a-RL-항CD40 _{1C}	IFN β -RL-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-RL-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-RL-항CD40 _{1C}	IFN γ -RL-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-RL-항CD40 _{1C}
GST 링커	IFN α 2a-GST-항CD40 _{1C}	IFN β -GST-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-GST-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-GST-항CD40 _{1C}	IFN γ -GST-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-GST-항CD40 _{1C}
HL 링커	IFN α 2a-HL-항CD40 _{1C}	IFN β -HL-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-HL-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-HL-항CD40 _{1C}	IFN γ -HL-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-HL-항CD40 _{1C}
HL2 링커	IFN α 2a-HL2-항CD40 _{1C}	IFN β -HL2-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-HL2-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-HL2-항CD40 _{1C}	IFN γ -HL2-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-HL2-항CD40 _{1C}
(G4S)2 링커	IFN α 2a-(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN β -(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN γ -(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-(G4S)2-항CD40 _{1C}
(G4S)3 링커	IFN α 2a-(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN β -(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN γ -(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-(G4S)3-항CD40 _{1C}
(G4S)4 링커	IFN α 2a-(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN β -(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S-(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN β _C17S,N80Q-(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN γ -(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN λ 2-(G4S)4-항CD40 _{1C}
B	IFN ϵ	IFN ω				
RL 링커	IFN ϵ -RL-항CD40 _{1C}	IFN ω -RL-항CD40 _{1C}				
GST 링커	IFN ϵ -GST-항CD40 _{1C}	IFN ω -GST-항CD40 _{1C}				
HL 링커	IFN ϵ -HL-항CD40 _{1C}	IFN ω -HL-항CD40 _{1C}				
HL2 링커	IFN ϵ -HL2-항CD40 _{1C}	IFN ω -HL2-항CD40 _{1C}				
(G4S)2 링커	IFN ϵ -(G4S)2-항CD40 _{1C}	IFN ω -(G4S)2-항CD40 _{1C}				
(G4S)3 링커	IFN ϵ -(G4S)3-항CD40 _{1C}	IFN ω -(G4S)3-항CD40 _{1C}				
(G4S)4 링커	IFN ϵ -(G4S)4-항CD40 _{1C}	IFN ω -(G4S)4-항CD40 _{1C}				

[0176]

[0177] 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이의 전구체에 포함된 예시적인 서열은 표 7에 나열되어 있다.

[0178] 예시적인 바람직한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NOs: 28-47에서 선택된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편을 포함한다. 다른 예시적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NOs: 62-69에서 선택된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편을 포함한다. 예시적인 바람직한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NOs: 28-47에서 선택된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다. 다른 예시적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NOs: 62-69에서 선택된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.

[0179] 특정 예시적 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 62에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편을 포함한다. 또 다른 예시적 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 62에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편이다.

[0180] 특정 예시적인 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 63에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편을 포함한다. 또 다른 예시적 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 63에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편이다.

[0181] 특정 예시적 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 64에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편을 포함한다. 또 다른 예시적 구체예

에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 64에 제시된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편이다.

- [illegible]

체에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 42에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편이다.

[0193] 또 다른 더욱 바람직한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 43에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편을 포함한다. 한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 43에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 결합 단편이다.

표 7

[0194] 항 CD40 항체 CP870,893에 기초한 예시적인 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 및 이의 성분의 서열. 이탤릭체 서열은 신호 펩타이드에 해당함. SEQ ID NOs: 3 및 6에서 굵은 이탤릭체 서열은 CDR 영역에 해당함. 굵은 이탤릭체가 아닌 서열은 링커에 해당함. 돌연변이된 아미노산은 밑줄이 그어져 있음

명칭 / 서열 번호	서열
신호 펩타이드 1(SEQ ID NO: 1)	<i>MGWSCIILFLVATATGVHS</i>
신호 펩타이드 2(SEQ ID NO: 2)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC</i>
항 CD40 항체 경쇄 (SEQ ID NO: 3)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR <i>ASQGIYSW</i> LAWYQQKPGKAPNLLIY <i>TASTLQS</i> GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <i>QANIFPLTF</i> GGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
신호 펩타이드 1이 있는 항 CD40 항체 경쇄 (SEQ ID NO: 4)	<i>MGWSCIILFLVATATGVHSD</i> IQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR <i>ASQGIYSW</i> LAWYQQKPGKAPNLLIY <i>TASTLQS</i> GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <i>QANIFPLTF</i> GGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
신호 펩타이드 2가 있는 항 CD40 항체 경쇄 (SEQ ID NO: 5)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCD</i> IQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR <i>ASQGIYSW</i> LAWYQQKPGKAPNLLIY <i>TASTLQS</i> GVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYC <i>QANIFPLTF</i> GGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 dK (SEQ ID NO: 6)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF <i>TGYMH</i> WVRQAPGQGLEWMG <i>WINPDSGGTNYAQKFQGR</i> VTMTTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYC <i>ARDQPLGYCTNGVCSYFDY</i> WGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
신호 펩타이드 1이 있는 항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 dK (SEQ ID NO: 7)	<i>MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF</i> TGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYC <i>ARDQPLGYCTNGVCSYFDY</i> WGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
신호 펩타이드 2가 있는 항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 dK (SEQ ID NO: 8)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF</i> TGYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYC <i>ARDQPLGYCTNGVCSYFDY</i> WGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 (SEQ ID NO: 9)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTF <i>TGYMH</i> WVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYC <i>ARDQPLGYCTNGVCSYFDY</i> WGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

신호 펩타이드 1이 있는 항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 (SEQ ID NO: 10)	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
신호 펩타이드 2가 있는 항 CD40 항체 중쇄 hIgG2 (SEQ ID NO: 11)	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTFRVSVSLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
항 CD40 항체 hIgG1 중쇄 -NNAS (SEQ ID NO: 48)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
항 CD40 항체 hIgG1 중쇄 -NNAS-dK (SEQ ID NO: 49)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
항 CD40 항체 hIgG2 Fab 영역 중쇄 (SEQ ID NO: 12)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVE
신호 펩타이드 1이 있는 항 CD40 항체 hIgG2 Fab 영역 중쇄 (SEQ ID NO: 13)	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVE
항 CD40 항체 hIgG2 Fab 영역 중쇄--TEV--6His 태그 (SEQ ID NO: 50)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVEENLYFQSHHHHHH
IFN β (SEQ ID NO: 14)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
IFN β C17S (SEQ ID NO: 15)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
IFN β C17S,N80Q (SEQ ID NO: 16)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNQETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
IFN α 2a (SEQ ID NO: 17)	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISFLSCLKDRHDFGFPOEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFS TKDSSAAWDETLLDKFYTEL YQLNDLEACV IQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYS PCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRSKE
IFN λ 2 (SEQ ID NO: 18)	VPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRAKDALEESLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRE RPMALAEALATLKVLEATADTPALVDVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPQTAGPRTRGRLLHHWLYRLQEAPKKESPGCLEASVTNLFRLRLTRDLNCAVSGDL CV
IFN γ (SEQ ID NO: 19)	QDPYVKEAENLKKYFNAGHSVDADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKNFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKA IHEL IQVMAELSPA AKTGKRRKSQMLFRGRASQ
IFN ω (SEQ ID NO: 60)	LGCDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFCLKDRRDFRFPQEMVKGSQLQKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSSAANMTLLDQLHTGLHQLHLETCLLQVVGEGESAGAISSPALTLRRYFQGI RYVLKEK KYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKDRDLGSS
IFN ϵ (SEQ ID NO: 61)	LDLKLIFQQQRQVNQESLKLNLKLTLSIQQCLPHRKNFLLPQKSLSPQQYQYQKGTALILHEMLQQIFSLFRANISLDGWEENHTEKFLIQLHQQLEYLEALMGLEAEKLSGTLGSDNLRQLVKMYFRRIHDYLENQDYSTCAWAI VQVEISRCLFFVFSLTEKLSKQGRPLNDMKQELTTEFRSPR
RL 링커 (SEQ ID NO: 20)	PAPA

GST 링커 (SEQ ID NO: 21)	SGGTSGSTSGTGS
HL 링커 (SEQ ID NO: 22)	AEAAAKEAAAAA
HL2 링커 (SEQ ID NO: 23)	AEAAAKEAAAAAEAAAKEAAAAA
(G4S)2 링커 (SEQ ID NO: 24)	GGGSGGGGS
(G4S)3 링커 (SEQ ID NO: 25)	GGGSGGGSGGGGS
(G4S)4 링커 (SEQ ID NO: 26)	GGGSGGGSGGGSGGGGS
TEV-6His 태그 (SEQ ID NO: 27)	ENLYFQSHHHHHH
항 CD40_LC--HL--IFNβ (SEQ ID NO: 28)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC AEAAAKEAAAK AMSYNLLGFLQRSSNFQCKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN
항 CD40_LC--HL--IFNβ_C17S (SEQ ID NO: 29)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC AEAAAKEAAAK AMSYNLLGFLQRSSNFQCKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN
항 CD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFNβ (SEQ ID NO: 30)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTDRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG PAPAM SYNLLGFLQRSSNFQCKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN
항 CD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFNβ_C17S (SEQ ID NO: 31)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTDRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG PAPAM SYNLLGFLQRSSNFQCKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN
항 CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNβ (SEQ ID NO: 32)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFGTGYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTDRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG AEAAAKEAAAK AMSYNLLGFLQRSSNFQCKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGyLRN

항 CD40_hIgG2_dK_HC-- HL--IFNβ_C17S (SEQ ID NO: 33)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG AEAAAKEAAAKAM SYNLLGFLQRSS NFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNE TIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHLYLKAKEYSHCAWTIVRVE ILRNIFYINRLTGYLRLN
항 CD40_LC--RL--IFNβ (SEQ ID NO: 34)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSSLPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC PAPAM SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKED AALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHL KRYYGRILHLYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
항 CD40_LC--RL--IFNβ _C17S (SEQ ID NO: 35)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSSLPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC PAPAM SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKED AALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHL KRYYGRILHLYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
항 CD40_LC--GST-- IFNβ_C17S (SEQ ID NO: 36)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSSLPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC SGGTSGTSGTGS MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIK QLQQFQKEDAALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTR GKLMSSLHLKRYYGRILHLYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
항 CD40_LC--HL2-- IFNβ_C17S (SEQ ID NO: 37)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFLTITSSLPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC AEAAAKEAAAKAAEAAAKEAAAKAM SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDR MNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNI FAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVL EEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHLYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLRLN
항 CD40_hIgG2_dK_HC-- (G4S)2--IFNα2a (SEQ ID NO: 38)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGSGGGSG CDLPQTHSLG SRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDK FYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRI TLYLKEKKYSPCAWEVVR AEIMRSF SLSTNLQESLSRKE
항 CD40_hIgG2_dK_HC-- (G4S)3--IFNα2a (SEQ ID NO: 39)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGSGGGSGGGSG CDLPQTHSLG SRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDE TLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRI TLYLKEKKYSPCAWEVVR AEIMRSF SLSTNLQESLSRKE
항 CD40_hIgG2_dK_HC-- (G4S)4--IFNα2a (SEQ ID NO: 40)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPI EKT ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSGDS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG CDLPQ THSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSS AAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRI TLYLKEKKYSPCAWE VVR AEIMRSFSLSTNLQESLSRKE

ant iCD40_LC--(G4S)2-- IFN α 2a (SEQ ID NO: 41)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQ KAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTEPLMKEDSIL LAVRKYFQRIITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
항 CD40_LC--(G4S)3-- IFN α 2a (SEQ ID NO: 42)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTEPLM KEDSILAVRKYFQRIITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
항 CD40_LC--(G4S)4-- IFN α 2a (SEQ ID NO: 43)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTEPLM KEDSILAVRKYFQRIITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
IFN β --(G4S)3-- ant iCD40_LC) (SEQ ID NO: 44)	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNQIFA IFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAK EYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLNRGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRTVITC RASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQA NIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
항 CD40_LC--(G4S)4-- IFN β (SEQ ID NO: 45)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECGGGGSGGGGSGGGGSGGGGMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQNGRLEYCLKDRMNF DIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNQIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEK LEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLNR
IFN β --(G4S)3-- ant iCD40_HC_IgG1_NNAS _dK (SEQ ID NO: 46)	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNQIFA IFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAK EYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLNRGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTDRTSISTAYMELNRLRSD DVTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDY FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
항 CD40_HC_IgG1_NNAS_dK-- (G4S)4--IFN β (SEQ ID NO: 47)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMTDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF LAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SM SYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNQIFA IFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAK EYSHCAWTIVRVEILRNIFYINRLTGYLNR
항 CD40_hIgG2_dK_HC-- HL--IFN α 2A (SEQ ID NO: 62)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRV TMTDRTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVF LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGT QTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDV SHEDPEVFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAEEAAKAAKACDLPQTHSLGSR RTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKSSAAWDETLL DKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTEPLMKEDSILAVRKYFQRIITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMR SFSLSLSTNLQESLSRKE
항 CD40_LC-유도체-- HL--IFN α 2A (SEQ ID NO: 63)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSG TDFTLTISSLQPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGECSLSPGAEEAAKAAKACDLPQTHSLGSRRTLMMLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFP QEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTE PLMKEDSILAVRKYFQRIITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE

항 CD40_LC--(G4S)4--IFN γ (SEQ ID NO: 64)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGGGSGQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHEL IQVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFRGRRASQ
항 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN γ (SEQ ID NO: 65)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCEPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHEL IQVMAELSPA AKTGKRKRSQMLFRGRRASQ
항 CD40_LC--(G4S)4--IFN λ 2 (SEQ ID NO: 66)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGGGSGVPPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRAKDALEESLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPMALAEALALTLKVLEATADTDPALVDVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPQPTAGPRTRGRLLHHWLYRLQEAPKKESPGCEASVTFNLFRLTRDLNLCVASGDLCV
항 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN λ 2 (SEQ ID NO: 67)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCEPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGVPPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRAKDALEESLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPMALAEALALTLKVLEATADTDPALVDVLDQPLHTLHHILSQFRACIQPQPTAGPRTRGRLLHHWLYRLQEAPKKESPGCEASVTFNLFRLTRDLNLCVASGDLCV
항 CD40_LC--(G4S)4--IFN ω (SEQ ID NO: 68)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTVITCRASQGIYSLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSLPEDFATYYCQANIFPLTFGGGKTVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGGSGGGSGGGSGSLGCDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRFPQEMVKGSQLQKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAAWNMTLLDQLHTGLHQQQLHLETCLLQVVGEGESAGAISSPALTLRRYFQGI RYVLKEKYSIDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKDRDLGSS
항 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN ϵ (SEQ ID NO: 69)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPDSSGTNYAQKFQGRVTMTSDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKRCCEPCPPAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSLDLKL IIFQQRQVNQESLKLNLKLTLSIQQLPHRKNFLLPQKSLSPQYQKGTALAILHEMLQQIFSLFRANISLDGWEENHTEKFLIQLHQLEYLEALMGLEAEKLSGLTGSNDLRLQVKMYFRRIHDYLENQDYSTCAWAIVQVEISRCLFFVSLTEKLSKQGRPLNDMKQELTTEFRSPR

[0195]

바람직한 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 표 8, 특히 표 8A 또는 표 8B, 보다 구체적으로 하기 표 8A에 명시된 것들, 특히 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 또는 SEQ ID NO: 43의 폴리펩타이드로부터 유래된 폴리펩타이드를 포함하는 인터페론-융합된 항원 결합 단백질이다. 바람직한 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 표 8, 특히 표 8A 또는 표 8B, 보다 상세하게는 하기 표 8A에 명시된 것들, 특히 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 또는 SEQ ID NO: 43의 폴리펩타이드로부터 유래된 폴리펩타이드로 구성된 인터페론-융합된 항원 결합 단백질이다. 보다 바람직한 구체예에서, 인터페론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 38 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 인터페론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 39 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 인터페론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 40 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 인터페론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 41 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함한다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 인터페론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 42 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함한다. 다른 보다 바람직한 구체예에서, 인터페

론-융합된 항체는 SEQ ID NO: 43 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함한다.

표 8

본 발명의 바람직한 인터페론-융합된 항원 결합 단백질에서 발견되는 폴리펩타이드 조합, CD40 및 IFN-경로의 활성화 및 생산성(즉, 배양액 리터당 수율)과 관련된 평균 EC₅₀ 값.
표시된 각 서열 조합은 해당 IFA에 두 번 포함됨. SN: 상등액.

인터페론-융합된 항체(IFA)	서열 조합	CD40 EC ₅₀ (ng/mL)	IFNβ EC ₅₀ (ng/mL)	IFNα EC ₅₀ (ng/mL)	생산성 (mg/L)
IFA1	(SEQ ID NO: 28) + (SEQ ID NO: 9)	74.1	1.64		16.7
IFA2	(SEQ ID NO: 29) + (SEQ ID NO: 9)	111	0.14		17.8
IFA8	(SEQ ID NO: 30) + (SEQ ID NO: 3)	39.7	2.9		6.45
IFA9	(SEQ ID NO: 31) + (SEQ ID NO: 3)	42.6	0.7		3.4
IFA10	(SEQ ID NO: 32) + (SEQ ID NO: 3)	26.5	4.5		6.9
IFA11	(SEQ ID NO: 33) + (SEQ ID NO: 3)	42.8	1.78		5.1
IFA12	(SEQ ID NO: 34) + (SEQ ID NO: 9)	105	3.64		21.2
IFA13	(SEQ ID NO: 35) + (SEQ ID NO: 9)	192	0.7		11.5
IFA19	(SEQ ID NO: 36) + (SEQ ID NO: 9)	110	1.3		5.6
IFA20	(SEQ ID NO: 37) + (SEQ ID NO: 9)	182	2.34		4.2
IFA25	(SEQ ID NO: 38) + (SEQ ID NO: 3)	13.3		5.1	21
IFA26	(SEQ ID NO: 39) + (SEQ ID NO: 3)	15.35		4	8.6
IFA27	(SEQ ID NO: 40) + (SEQ ID NO: 3)	17		2.4	9.3
IFA28	(SEQ ID NO: 41) + (SEQ ID NO: 9)	12.8		4.5	75
IFA29	(SEQ ID NO: 42) + (SEQ ID NO: 9)	11.1		2	56.6
IFA30	(SEQ ID NO: 43) + (SEQ ID NO: 9)	11.3		1.6	46.6
IFA34	(SEQ ID NO: 44) + (SEQ ID NO: 49)	활성 (SN)	활성 (SN)		유의한 생산이 없음
IFA35	(SEQ ID NO: 45) + (SEQ ID NO: 49)	활성 (SN)	활성 (SN)		유의한 생산이 없음
IFA36	(SEQ ID NO: 46) + (SEQ ID NO: 3)	활성 (SN)	활성 (SN)		유의한 생산이 없음
IFA37	(SEQ ID NO: 47) + (SEQ ID NO: 3)	활성 (SN)	활성 (SN)		유의한 생산이 없음

인터페론-융합된 항체(IFA)	서열 조합	CD40 EC ₅₀ (ng/mL)	IFNα EC ₅₀ (ng/mL)	IFNλ EC ₅₀ (ng/mL)	IFNγ EC ₅₀ (ng/mL)	IFNε EC ₅₀ (ng/mL)	IFNω EC ₅₀ (ng/mL)	생산성 (mg/L)
IFA38	(SEQ ID NO: 62) + (SEQ ID NO: 3)	22.7	3.77					1.32
IFA39	(SEQ ID NO: 63) + (SEQ ID NO: 9)	17.5	2.95					1.25
IFA42	(SEQ ID NO: 64) + (SEQ ID NO: 9)	65.6			15.4			0.72
IFA43	(SEQ ID NO: 65) + (SEQ ID NO: 3)	50.8			<0.001			0.55
IFA44	(SEQ ID NO: 66) + (SEQ ID NO: 9)	41.4		0.153				0.91
IFA45	(SEQ ID NO: 67) + (SEQ ID NO: 3)	25.8		<0.001				1.09
IFA46	(SEQ ID NO: 68) + (SEQ ID NO: 9)	86.3					0.493	0.89
IFA49	(SEQ ID NO: 69) + (SEQ ID NO: 3)	65.8				78.2		0.61
IFA50	(SEQ ID NO: 41) + (SEQ ID NO: 50)	128	1.36					0.57
IFA51	(SEQ ID NO: 42) + (SEQ ID NO: 50)	123	1.43					0.48

[0196]

[0197] 핵산 및 발현 벡터

[0198] 일 양태에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드의 조합이 제공된다. 이들 폴리뉴클레오타이드를 발현시키는 것을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제조 방법이 또한 제공된다.

[0199] 일부 구체예에서, 본원에 개시된 바와 같이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산이 제공된다. 특정 예시적 구체예에서, 핵산은 SEQ ID NOs: 62 내지 69에 기재된 서열 중 임의의 것 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열에 따라 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩한다. 특정 예시적인 구체예에서, 상기 핵산은 SEQ ID NOs: 62 내지 69 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일하다. 바람직한 구체예에서, 핵산은 SEQ ID NOs: 28 내지 47에 기재된 서열 중 임의의 것 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열에 따라 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩한다. 훨씬 더 구체적인 구체예에서, 상기 핵산은 SEQ ID NOs: 28 내지 47 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일하다.

[0200] 핵산이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을

인코딩하는 구체예에서, 핵산은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 추가로 인코딩할 수 있다. 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 훨씬 더 구체적인 구체예에서, 상기 핵산은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49 또는 SEQ ID NO: 50을 인코딩하는 핵산과 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 동일하다.

[0201] 핵산이 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 구체예에서, 핵산은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 추가로 인코딩할 수 있다. 보다 구체적인 구체예에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄는 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 또는 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일한 핵산 서열을 포함한다. 훨씬 더 구체적인 구체예에서, 상기 핵산은 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 또는 SEQ ID NO: 5를 인코딩하는 핵산과 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 동일하다.

[0202] 특정 구체예에서, 본원에 기재된 핵산은 수율을 증가시키거나(예를 들어, 용해도 태그) 발현된 단백질의 정제를 촉진하기 위한 서열을 인코딩하는 서열(즉, 정제 태그)을 포함할 수 있다. 정제 태그는 당업자에게 공지되어 있으며 글루타티온 S-트랜스퍼라제(GST) 태그, 말토스 결합 단백질(MBP) 태그, 칼모둘린 결합 펩타이드(CBP) 태그, 인테인-키틴 결합 도메인(인테인-CBD) 태그, 스트렙타비딘/비오틴 기반 태그(예를 들어, 비오틴화 신호 펩타이드(BCCP) 태그, 스트렙타비딘 결합 펩타이드(SBP) 태그, His-태치 ThioFusion 태그, 탠덤 친화성 정제(TAP) 태그, 소형 유비퀴틴 유사 개질제(SUMO) 태그, HaloTag®(Promega), Profinity eXact™ 시스템(Bio-Rad)으로부터 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 정제 태그는 폴리히스티딘 태그(예를 들어, His₆-, His₇-, His₈-, His₉- 또는 His₁₀-태그)일 수 있다. 다른 구체예에서, 정제 태그는 Strep-태그(예를 들어, Strep-tag® 또는 Strep-tag II®; IBA Life Sciences)일 수 있다. 또 다른 구체예에서, 정제 태그는 말토스 결합 단백질(MBP) 태그일 수 있다.

[0203] 일부 구체예에서, 핵산 서열은 정제 태그의 제거를 위한 절단 부위를 인코딩하는 서열을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 절단 서열은 당업자에게 공지되어 있고 엔도프로테아제 또는 엑소프로테아제에 의해 인식되고 절단되는 서열로부터 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 정제 태그의 제거를 위한 엔도프로테아제는 엔테로펩티다제, 트롬빈, 인자 Xa, TEV 프로테아제 또는 라이노바이러스 3C 프로테아제로부터 선택될 수 있다. 일부 구체예에서, 정제 태그의 제거를 위한 엑소프로테아제는 카르복시펩티다아제 A, 카르복시펩티다아제 B 또는 DAPase로부터 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 정제 태그의 제거를 위한 프로테아제는 TEV 프로테아제이다. 보다 구체적인 바람직한 구체예에서, 핵산은 His₆-태그 및 TEV 절단 부위를 인코딩하는 서열을 포함한다. 훨씬 더 구체적인 바람직한 구체예에서, 상기 핵산은 SEQ ID NO: 27에 기재된 서열을 인코딩하는 서열을 포함한다.

[0204] 본 발명의 핵산 분자는 또한 신호 펩타이드를 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 당업자는 발현된 단백질을 원하는 폴딩, 조립 및/또는 성숙 부위로 유도할 뿐만 아니라 최종 단백질을 배지로 분비하여 다운스트림 프로세싱을 용이하게 하는 데 사용할 수 있는 다양한 신호 펩타이드를 알고 있다. 따라서, 일부 구체예에서, 신호 펩타이드는 분비 신호 펩타이드이다. 인코딩된 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 포함한다. 다른 구체예에서, 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 포함한다.

[0205] 신호 펩타이드(SEQ ID NO: 1)는 SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 47 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 폴리펩타이드 서열의 합성에 사용되었다. 폴리펩타이드의 각 서열의 N-말단에 처음에 존재하는 이러한 신호 펩타이드는 합성 동안 절단된다.

[0206] 신호 펩타이드 2(SEQ ID NO: 2)는 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 및 SEQ ID NO: 43에 기재된 폴리펩타이드 서열의 합성에 사용하였다. 폴리펩타이드의 각 서열의 N-말단에 처음에 존재하는 이러한 신호 펩타이드는 합성 동안 절단된다.

[0207] SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 63, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 65, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 67, SEQ ID: 68

및 SEQ ID NO: 69에 기재된 폴리펩타이드 서열의 합성을 위해, 신호 펩타이드 MGWSCIILFLVATATGVHS(SEQ ID NO: 1)를 사용하였다. 폴리펩타이드의 각 서열의 N-말단에 처음에 존재하는 이러한 신호 펩타이드는 합성 동안 절단된다.

[0208] 본원에 개시된 바와 같은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 일반적으로 청구된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 원하는 양을 생산하기 위해 사용될 수 있는 숙주 세포에 도입하기 위한 발현 벡터에 삽입된다. 따라서, 특정 양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 발현 벡터 및 이들 벡터 및 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0209] "벡터" 또는 "발현 벡터"라는 용어는 본원에서 본 명세서 및 청구범위의 목적을 위해 본 발명에 따라 세포 내로 도입하고 원하는 유전자를 발현시키기 위한 비히클로서 사용되는 벡터를 의미하는 데 사용된다. 당업자에게 공지된 바와 같이, 이러한 벡터는 플라스미드, 파지, 바이러스 및 레트로바이러스로 구성된 군에서 용이하게 선택될 수 있다. 일반적으로, 본 발명에 적합한 벡터는 선별 마커, 원하는 유전자의 클로닝을 용이하게 하는 적절한 제한 부위 및 진핵 또는 원핵 세포에 진입 및/또는 복제하는 능력을 포함할 것이다.

[0210] 다수의 발현 벡터 시스템이 본 발명의 목적을 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 벡터의 한 부류는 소 유두종 바이러스, 폴리오마 바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 배콜로바이러스, 레트로바이러스(RSV, MMTV 또는 MOMLV) 또는 SV40 바이러스와 같은 동물 바이러스에서 유래된 DNA 요소를 사용한다. 다른 것들은 내부 리보솜 결합 부위가 있는 폴리시스트론 시스템의 사용을 포함한다. 추가로, DNA를 염색체 내로 통합한 세포는 형질감염된 숙주 세포의 선별을 허용하는 하나 이상의 마커를 도입함으로써 선별될 수 있다. 마커는 영양요구성 숙주에 대한 원영양, 바이오사이드(biocide) 내성(예를 들어, 항생제) 또는 구리와 같은 중금속에 대한 내성을 제공할 수 있다. 선별 가능한 마커 유전자는 발현될 DNA 서열에 직접 연결되거나 동시 형질전환에 의해 동일한 세포에 도입될 수 있다. mRNA의 최적 합성을 위해 추가 요소가 필요할 수도 있다. 이러한 요소에는 신호 서열, 스플라이스 신호, 전사 프로모터, 인핸서 및 종결 신호가 포함될 수 있다. 일부 구체예에서, IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 유전자와 융합된 클로닝된 가변 영역 유전자는 상기 논의된 바와 같이 합성된 중쇄 및 경쇄 불변 영역 유전자(예: 인간 유전자)와 함께 발현 벡터 내로 삽입된다.

[0211] 다른 구체예에서, 본 발명의 벡터 시스템은 하나 이상의 벡터를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 벡터 시스템은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편의 발현을 위한 제1 벡터 및 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 발현을 위한 제2 벡터를 포함할 수 있다. 대안으로, 그러한 벡터 시스템은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편의 발현을 위한 제1 벡터 및 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 발현을 위한 제2 벡터를 포함할 수 있다.

[0212] 다른 구체예에서, 본원에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 폴리시스트론 작제물을 사용하여 발현될 수 있다. 이러한 발현 시스템에서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합되고 상기 항체의 경쇄를 인코딩하는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 코딩하는 것, 또는 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합되고 상기 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 인코딩하는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 것과 같은 다중 유전자 산물은 단일 폴리시스트론 구조에서 생성될 수 있다. 이들 시스템은 유리하게 내부 리보솜 진입 부위(IRES)를 사용하여 진핵 숙주 세포에서 비교적 높은 수준의 폴리펩타이드를 제공한다. 호환 가능한 IRES 서열은 미국 특허 번호 6,193,980에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참고로 포함된다. 당해 분야의 숙련가는 이러한 발현 시스템이 본 출원에 개시된 전체 범위의 폴리펩타이드를 효과적으로 생성하는데 사용될 수 있음을 이해할 것이다.

[0213] 보다 일반적으로, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 벡터 또는 DNA 서열이 제조되면, 발현 벡터는 적절한 숙주 세포에 도입될 수 있다. 즉, 숙주 세포가 형질전환될 수 있다. 플라스미드의 숙주 세포 내로의 도입은 당업자에게 잘 알려진 다양한 기술에 의해 달성될 수 있다. 여기에는 형질감염(전기영동 및 전기천공 포함), 원형질체 융합, 인산칼슘 침전, 외피 DNA와의 세포 융합, 미세주사 및 온전한 바이러스 감염이 포함되나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, Ridgway, A. A. G. "Mammalian Expression Vectors" Chapter 24.2, pp. 470-472 Vectors, Rodriguez and Denhardt, Eds. (Butterworths, Boston, MA 1988)를 참조할 것. 형질전환된 세포는 경쇄 및 중쇄의 생산에 적합한 조건하에서 성장되고 중쇄 및/또는 경쇄 단백질 합성에 대해 분석된다. 예시적인 분석 기술은 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA), 방사선면역분석(RIA), 또는 형광-활성화 세포 분류기 분석(FACS), 면역조직화학 등을 포함한다.

- [0214] 본원에 사용된 용어 "형질전환"은 유전자형을 변화시키고 결과적으로 수용체 세포의 변화를 초래하는 수용체 숙주 세포 내로 DNA의 도입을 지칭하기 위해 넓은 의미로 사용되어야 한다.
- [0215] 동일한 계통을 따라 "숙주 세포"는 재조합 DNA 기술을 사용하여 구축되고 적어도 하나의 이중 유전자를 인코딩하는 벡터로 형질전환된 세포를 지칭한다. 재조합 숙주로부터 폴리펩타이드를 분리하는 과정에 대한 설명에서, "세포" 및 "세포 배양물"이라는 용어는 달리 명시되지 않는 한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 공급원을 나타내기 위해 상호교환적으로 사용된다. 다시 말해서, "세포"로부터 폴리펩타이드의 회수는 회전된 전체 세포로부터, 또는 배지 및 현탁된 세포 둘 다를 함유하는 세포 배양물로부터를 의미할 수 있다.
- [0216] 일 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 발현에 사용되는 숙주 세포주는 진핵 또는 원핵 기원의 것이다. 본원에 사용된 용어 "발현"은 최종 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 형성하기 위해 결합되는 하나 이상의 폴리펩타이드쇄(예를 들어 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 항체 모이어티의 중쇄 및 경쇄)의 전사 및 번역을 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 발현에 사용되는 숙주 세포주는 박테리아 기원의 것이다. 일 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 발현에 사용되는 숙주 세포주는 포유동물 기원이다; 당업자는 원하는 유전자 산물이 그 안에서 발현되기에 가장 적합한 특정 숙주 세포주를 결정할 수 있다. 예시적인 숙주 세포주는 Horizon, DG44 및 DUXB11(중국 햄스터 난소 계통, DHFR 마이너스), HELA(인간 자궁 경부암), CVI(원숭이 신장 계통), COS(SV40 T 항원을 갖는 CVI의 유도체)로부터의 CHO K1 GS 녹아웃, R1610(중국 햄스터 섬유아세포) BALBC/3T3(마우스 섬유아세포), HAK(햄스터 신장 라인), SP2/0(마우스 골수종), BFA-1c1BPT(소 내피 세포), RAJI(인간 림프구), HEK 293(인간 신장)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 바람직한 실시예에서, HEK FS S11/254 세포가 사용될 수 있다. 또 다른 바람직한 구체예에서, Horizon의 CHO K1 GS가 사용될 수 있다. 일 구체예에서, 세포주는 그로부터 발현된 항체(예를 들어, PER.C6®(Crucell) 또는 FUT8-녹아웃 CHO 세포주(POTELLIGENT™ 세포)(Biowa, Princeton, NJ)의 변경된 글리코실화(예를 들어, 아푸코실화)를 제공한다. 일 구체예에서 NS0 세포가 사용될 수 있다. 숙주 세포주는 일반적으로 상업적 서비스, American Tissue Culture Collection 또는 출판된 문헌에서 입수할 수 있다.
- [0217] 한 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 발현에 사용되는 숙주는 비-인간 형질전환 동물 또는 형질전환 식물이다.
- [0218] 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 또한 목적 서열에 대해 형질전환된 비인간 동물(예: 포유동물) 또는 식물의 생성 및 그로부터 회수 가능한 형태의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 생산을 통해 형질전환으로 생산될 수 있다. 포유동물에서의 형질전환체 생산과 관련하여, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 염소, 소 또는 기타 포유동물의 우유에서 생산 및 회수될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,827,690, 5,756,687, 5,750,172 및 5,741,957를 참조할 것. 예시적인 식물 숙주는 니코티아나(Nicotiana), 애기장대(Arabidopsis), 오리폴(Duckweed), 옥수수, 밀, 감자 등이다. 프로모터 및 벡터의 설명뿐만 아니라 식물의 형질전환을 포함하는 식물에서 항체를 발현시키는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 본원에 참고로 포함된 미국 특허 번호 6,517,529를 참조할 것. 일부 구체예에서, 비-인간 형질전환 동물 또는 식물은 표준 형질전환 기술에 의해 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 하나 이상의 핵산 분자를 동물 또는 식물에 도입함으로써 생산된다. Hogan 및 미국 특허 번호 6,417,429를 참조할 것. 형질전환 동물을 만드는데 사용되는 형질전환 세포는 배아 줄기 세포 또는 체세포일 수 있다. 형질전환 비인간 유기체는 키메라, 비-키메라 이형접합체 및 비-키메라 동형접합체일 수 있다. 예를 들어, Hogan et al., Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press(1999); Jackson et al., Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach, Oxford University Press (2000); 및 Pinkert, Transgenic Animal Technology: A Laboratory Handbook, Academic Press (1999)를 참조할 것. 일부 구체예에서, 형질전환 비인간 동물은 목적 서열(들)을 인코딩하는 표적화 작제물에 의한 표적화된 파괴 및 대체를 갖는다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 임의의 형질전환 동물에서 제조될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 비인간 동물은 마우스, 래트, 양, 돼지, 염소, 소 또는 말이다. 비인간 형질전환 동물은 혈액, 우유, 소변, 타액, 눈물, 점액 및 기타 체액에서 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 발현한다.
- [0219] 시험관내 생산은 원하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 다량으로 제공하기 위한 규모 확대를 허용한다. 조직 배양 조건하에서 포유동물 세포 배양을 위한 기술은 당업계에 공지되어 있으며 균질한 현탁 배양, 예를 들어 공기부양(airlift) 반응기 또는 연속 교반기 반응기에서, 또는 예를 들어, 중공 섬유, 마이크로캡슐, 아가로스 마이크로비드 또는 세라믹 카트리지에 고정되거나 포획된 세포 배양을 포함한다. 필요한 경우 및/또는 원하는 경우, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 용액은 통상적인 크로마토그래피 방법, 예를 들어 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, DEAE-셀룰로스 상에서의 크로마토그래피 및/또는 (면역-) 친화성 크로마토그래피에 의해

정제될 수 있다.

- [0220] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 하나 이상의 유전자는 또한 박테리아 또는 효모 또는 식물 세포와 같은 비포유동물 세포에서 발현될 수 있다. 이와 관련하여, 박테리아와 같은 다양한 단세포 비포유동물 미생물이 또한 형질전환될 수 있음이 이해될 것이다; 즉, 배양 또는 발효에서 자랄 수 있는 것. 형질전환되기 쉬운 박테리아에는 대장균(*Escherichia coli*) 또는 살모넬라(*Salmonella*) 균주와 같은 장내세균과의 구성원; 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)와 같은 바실라세아(*Bacillaceae*); 폐렴구균(*Pneumococcus*); 스트렙토코커스(*Streptococcus*) 및 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*)를 포함한다. 박테리아에서 발현될 때, 본 발명에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이의 성분(즉, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 IFN의 기능성 단편)은 봉입체의 일부가 될 수 있음이 추가로 이해될 것이다. 원하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 그 다음 분리되고, 선택적으로 또한 리폴딩되고, 정제될 필요가 있을 수 있다.
- [0221] 원핵생물에 더하여, 진핵생물 미생물도 사용될 수 있다. 많은 다른 균주가 일반적으로 사용 가능하지만 진핵 미생물 중에서 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 또는 일반적인 제빵 효모가 가장 일반적으로 사용된다. 사카로마이세스(*Saccharomyces*)에서의 발현의 경우, 플라스미드 YRp7, 예를 들어(Stinchcomb et al., Nature, 282:39(1979); Kingsman et al., Gene, 7:141(1979); Tschemper et al., Gene, 10: 157(1980)) 이 일반적으로 사용된다. 이 플라스미드는 트립토판, 예를 들어 ATCC No. 44076 또는 PEP4-1(Jones, Genetics, 85:12 (1977))에서 성장하는 능력이 없는 효모의 돌연변이 균주에 대한 선별 마커를 제공하는 TRP1 유전자를 이미 포함한다. 효모 숙주 세포 계통의 특성으로서 *trp1* 병변의 존재는 트립토판 부재 하에 성장에 의한 형질전환을 검출하기 위한 효과적인 환경을 제공한다.
- [0222] 치료 벡터
- [0223] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열은 벡터 내로 삽입될 수 있고 치료 벡터, 예를 들어, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 발현하는 벡터로 사용될 수 있다. 적합한 기능적 발현 작제물 및 치료적 발현 벡터의 구축은 당업자에게 공지되어 있다. 따라서, 특정 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 RNA 또는 DNA 서열, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 벡터 또는 벡터 시스템을 이용한 유전자 전달을 통해 대상체에게 투여될 수 있다.
- [0224] 치료 벡터는 예를 들어 정맥내 주사, 국부 투여(미국 특허 번호 5,328,470 참조) 또는 정위 주사(예를 들어, Chen et al., PNAS 91:3054-3057 (1994) 참조)에 의해 대상체에게 전달될 수 있다. 치료 벡터의 약학적 제제는 허용되는 희석제에 벡터를 포함할 수 있다.
- [0225] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 또는 핵산들은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산을 전달하기 위한 치료 프로토콜의 일부로서 사용되는 유전자 작제물에 포함될 수 있다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 생체내 형질감염 및 발현을 위한 발현 벡터가 제공된다.
- [0226] 이러한 성분의 발현 작제물은 생물학적으로 효과적인 담체, 예를 들어, 당해 분야의 숙련가에게 공지된 바와 같이, 성분 핵산 서열을 생체내에서 세포에 효과적으로 전달할 수 있는 임의의 제형 또는 조성물로 투여될 수 있다. 접근 방식에는 재조합 레트로바이러스, 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스 및 단순 포진 바이러스-1, 재조합 박테리아 또는 진핵 플라스미드 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 바이러스 벡터에 대상체 핵산 서열(들)의 삽입이 포함되나 이에 제한되지 않는다.
- [0227] 레트로바이러스 벡터 및 아데노-연관 바이러스 벡터는 생체내, 특히 인간으로의 외인성 핵산 서열의 전달을 위한 재조합 전달 시스템으로 사용될 수 있다. 이러한 벡터는 유전자를 세포 내로 효율적으로 전달하고, 전달된 핵산은 숙주의 염색체 DNA에 안정적으로 통합될 수 있다.
- [0228] 복제 결합 레트로바이러스만을 생산하는 특수 세포주("패키징 세포"라고 함)의 개발은 유전자 치료를 위한 레트로바이러스의 유용성을 증가시켰고 결합 레트로바이러스는 유전자 치료 목적을 위한 유전자 전달에 사용하기 위한 특성이 있다(검토를 위해, 예를 들어, Miller, Blood 76:271-78 (1990) 참조할 것). 복제-결합 레트로바이러스는 표준 기술에 의해 헬퍼 바이러스를 사용하여 표적 세포를 감염시키는 데 사용할 수 있는 비리온으로 패키징할 수 있다. 재조합 레트로바이러스를 생산하고 이러한 바이러스로 시험관내 또는 생체내에서 세포를 감염시키기 위한 프로토콜 및 기타 표준 실험실 매뉴얼은 Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel, et al., (eds.) Greene Publishing Associates, (1989), Sections 9.10-9.14에서 찾을 수 있다. 적합한 레트로바이러스의 비제한적 예는 pLJ, pZIP, pWE 및 pEM을 포함하며, 이는 당업자에게 공지되어 있다. 적합한 패키징 바

이러스 라인의 예는 *Crip, *Cre, *2 및 *Am을 포함한다. (예를 들어, Eglitis, et al., Science 230:1395-1398 (1985); Danos and Mulligan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:6460-6464 (1988); Wilson, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:3014-3018 (1988); Armentano, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:6141-6145 (1990); Huber, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8039-8043 (1991); Ferry, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:8377-8381 (1991); Chowdhury, et al., Science 254:1802-1805 (1991); van Beusechem, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7640-7644 (1992); Kay, et al., Human Gene Therapy 3:641-647 (1992); Dai, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10892-10895 (1992); Hwu, et al., J. Immunol. 150:4104-4115 (1993); 미국 특허 번호 4,868,116; 미국 특허 번호 4,980,286; PCT 출원 WO 89/07136; PCT 출원 WO 89/02468; PCT 출원 WO 89/05345; 및 PCT 출원 WO 92/07573를 참조할 것).

[0229] 또 다른 구체예에서, 아데노바이러스-유래된 전달 벡터가 제공된다. 아데노바이러스의 게놈은 목적 유전자 산물을 인코딩하고 발현하지만 정상적인 용해성 바이러스 생활사에서 복제하는 능력의 관점에서 비활성화되도록 조작될 수 있다. 예를 들어, Berkner, et al., BioTechniques 6:616 (1988); Rosenfeld, et al., Science 252:431-434 (1991); 및 Rosenfeld, et al., Cell 68:143-155(1992)를 참조할 것. 아데노바이러스 군주 Ad 유형 5 d1324 또는 아데노바이러스의 다른 군주(예를 들어, Ad2, Ad3, Ad7 등)로부터 유래된 적합한 아데노바이러스 벡터는 당업자에게 공지되어 있다. 재조합 아데노바이러스는 그들이 비분열 세포를 감염시킬 수 없고 상피 세포를 포함하는 광범위한 세포 유형을 감염시키는 데 사용될 수 있다는 점에서 특정 상황에서 유리할 수 있다 (Rosenfeld, et al.(1992), 상기). 또한, 바이러스 입자는 비교적 안정하고 정제 및 농축이 용이하며, 상기와 같이 감염 스펙트럼에 영향을 미치지도록 변형될 수 있다. 또한, 도입된 아데노바이러스 DNA(및 그 안에 포함된 외래 DNA)는 숙주 세포의 게놈에 통합되지 않고 예외적으로 남아 있어 도입된 DNA가 숙주 게놈(예를 들어, 레트로바이러스 DNA)에 통합되는 인 시추에서 삽입 돌연변이 유발의 결과로 발생할 수 있는 잠재적인 문제를 방지한다. 더욱이, 외래 DNA에 대한 아데노바이러스 게놈의 운반 능력은 다른 전달 벡터에 비해 크다(최대 8 kbs)(Berkner, et al.(1998), supra; Haj-Ahmand and Graham, J. Virol. 57:267(1986)).

[0230] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 전달에 유용한 또 다른 바이러스 벡터 시스템은 아데노-연관 바이러스(AAV)이다. AAV는 자연적으로 발생하는 결합 바이러스로, 아데노바이러스나 헤르페스 바이러스와 같은 다른 바이러스를 효율적인 복제와 생산적인 생활사를 위한 헬퍼 바이러스로서 요구한다(검토를 위해 Muzyczka, et al., Curr. Topics in Micro. and Immunol. 158:97-129 (1992) 참조할 것). 또한 DNA를 비분열 세포에 통합할 수 있는 몇 안 되는 바이러스 중 하나이며 높은 빈도의 안정적인 통합을 나타낸다(예를 들어 Flotte, et al., Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol. 7:349-356 (1992); Samulski, et al., J. Virol. 63:3822-3828 (1989); 및 McLaughlin, et al., J. Virol. 62:1963-1973 (1989) 참조할 것). AAV의 최소 300개 염기쌍을 포함하는 벡터를 패키징하고 통합할 수 있다. 외인성 DNA를 위한 공간은 약 4.5kb로 제한된다. Tratschin, et al., Mol. Cell. Biol. 5:3251-3260 (1985)에 기술된 바와 같은 AAV 벡터는 DNA를 세포 내로 도입하는데 사용될 수 있다. 다양한 핵산이 AAV 벡터를 사용하여 다른 세포 유형에 도입되었다(예를 들어 Hermonat, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6466-6470 (1984); Tratschin, et al., Mol. Cell. Biol. 4:2072-2081 (1985); Wondisford 참조, et al., Mol. Endocrinol. 2:32-39(1988), Tratschin, et al., J. Virol. 51:611-619(1984) 및 Flotte, et al., J. Biol. Chem. 268:3781-3790(1993)를 참조할 것).

[0231] 바이러스 전달 방법 외에, 비-바이러스 방법이 또한 대상체의 조직에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 발현을 야기하기 위해 사용될 수 있다. 유전자 전달의 대부분의 비-바이러스 방법은 거대 분자의 흡수 및 세포내 수송을 위해 포유동물 세포에 의해 사용되는 정상적인 메커니즘에 의존한다. 일부 구체예에서, 비-바이러스 전달 시스템은 표적화된 세포에 의한 대상체 유전자의 흡수를 위한 내포식형 경로에 의존한다. 이러한 유형의 예시적인 전달 시스템은 리포솜 유래 시스템, 폴리-리신 접합체 및 인공 바이러스 외피를 포함한다. 다른 구체예는 Meuli, et al., J. Invest. Dermatol. 116 (1):131-135 (2001); Cohen, et al., Gene Ther 7 (22):1896-905 (2000); or Tam, et al., Gene Ther. 7 (21):1867-74 (2000)에 기재된 바와 같은 플라스미드 주입 시스템을 포함한다.

[0232] 임상 환경에서, 전달 시스템은 각각이 당업계에 친숙한 임의의 다수의 방법에 의해 대상체에 도입될 수 있다. 예를 들어, 전달 시스템의 약학적 제제는 예를 들어 정맥내 주사에 의해 전신적으로 도입될 수 있다. 표적 세포에서 단백질의 특이적 형질도입은 주로 전달 비히클에 의해 제공되는 형질감염의 특이성, 수용체 유전자의 발현을 제어하는 전사 조절 서열로 인한 세포 유형 또는 조직 유형 발현, 또는 이들의 조합으로부터 발생한다. 다른 구체예에서, 재조합 유전자의 초기 전달은 동물 내로의 도입이 상당히 국소화됨에 따라 더욱 제한된다. 예를 들어, 전달 비히클은 카테터(미국 특허 번호 5,328,470 참조) 또는 정위 주입(예: Chen, et al., PNAS 91:3054-

3057(1994))에 의해 도입될 수 있다.

- [0233] 치료 약제물의 약학적 제제는 본질적으로 허용가능한 희석제에서 전달 시스템으로 구성될 수 있거나, 전달 비히클이 내장된 서방성 매트릭스를 포함할 수 있다. 대안으로, 완전한 전달 시스템이 재조합 세포, 예를 들어 레트로바이러스 벡터로부터 온전하게 생성될 수 있는 경우, 약학적 제제는 전달 시스템을 생성하는 하나 이상의 세포를 포함할 수 있다.
- [0234] 치료 방법
- [0235] 일 양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 바와 같이, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열(예를 들어, mRNA)의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 환자(예를 들어, HBV에 감염된 환자)를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 본원에 개시된 바와 같은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열(예를 들어, mRNA)의 의약의 제조에서의 용도를 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 본원에 개시된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열(예를 들어, mRNA)의 장애 및/또는 증상, 예를 들어 HBV-관련 장애 및/또는 HBV-관련 증상의 치료를 위한 의약의 제조에서의 용도를 제공한다. 특정 구체예에서, 본 발명은 이러한 치료를 필요로 하는 포유동물 대상체에서 장애 및/또는 증상, 예를 들어 HBV-관련 장애 및/또는 HBV-관련 증상의 치료를 위한 키트 및 방법을 제공한다. 특정 예시적인 구체예에서, 대상체는 인간이다.
- [0236] 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 다수의 상이한 적용에서 유용하다. 예를 들어, 일 구체예에서, 대상체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 HBV-감염세포로부터 HBeAg 방출을 감소시키는데 유용하다. 일부 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 시험관내에서 프라이머리 간세포에 의한 HBeAg 방출을 1 ng/mL에서 적어도 10%, 1 ng/mL에서 적어도 20%, 1 ng/mL에서 적어도 30%, 1 ng/mL에서 적어도 40%, 1 ng/mL에서 적어도 50%, 1 ng/mL에서 적어도 60%, 1 ng/mL에서 적어도 70%, 1 ng/mL에서 적어도 80%, 또는 1 ng/mL에서 적어도 85%로 감소시킨다. 일부 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 시험관내에서 프라이머리 간세포에 의한 HBeAg 방출을 1 ng/mL에서 적어도 12%까지 감소시킨다. 일부 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 시험관내에서 프라이머리 간세포에 의한 HBeAg 방출을 1 ng/mL에서 최대 90%까지 감소시킨다. 관련된 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 30 ng/mL 미만의 EC₅₀, 바람직하게는 10 ng/mL 미만의 EC₅₀, 더욱 바람직하게는 1 ng/mL 미만의 EC₅₀으로 HBeAg 방출을 감소시킨다.
- [0237] 또 다른 구체예에서, 대상체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 HBV-감염세포에서 cccDNA의 pgRNA 전사를 감소시키는데 유용하다.
- [0238] 또 다른 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 본원(하기)에 기재된 바와 같이 HBV 감염과 관련된 하나 이상의 증상 및/또는 합병증을 감소시키는데 유용하다.
- [0239] 특정 구체예에서, 대상체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 만성 HBV 감염, 예를 들어 몇 년에 걸쳐 간경변을 유발하는 간의 만성 염증(만성 간염); 간세포 암종(HCC); 막성 사구체 신염(MGN)의 발병; 사망 위험; 급성 괴사성 혈관염(결절성 다발성 동맥염), 막성 사구체신염 및 소아의 구진 선 피부염(Gianotti-Crosti 증후군); HBV 관련 신병증(예: 막성 사구체신염); 면역 매개 혈액 장애(예: 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 재생 불량성 빈혈); 등등 과 관련된 하나 이상의 장애, 증상 및/또는 합병증을 감소시키는데 유용하다.
- [0240] 특정 구체예에서, 대상체 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 급성 HBV 감염과 관련된 하나 이상의 증상 및/또는 합병증, 예를 들어, 급성 바이러스성 간염(일반적인 건강 악화, 식욕 부진, 메스꺼움, 구토, 전신 통증, 미열 및 어두운 소변으로 시작하여 황달, 전격성 간부전 및/또는 혈청병-유사 증후군의 발생으로 진행); 식욕 상실; 관절 및 근육통; 미열; 복통; 메스꺼움; 구토; 황달; 팽만감; 등등을 감소시키는데 유용하다.
- [0241] 따라서, 본 발명은 또한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열의 유효하고 무독성인 양을 인간 또는 동물에게 투여함으로써 인간 또는 다른 동물에서 HBV 감염과 관련된 하나 이상의 장애, 증상 및/또는 합병증을 치료하는 방법에 관한 것이다. 당업자는 일상적인 실험을 통해 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열의 유효하고 무독성인 양이 HBV 감염을 치료하기 위한 것인지 결정할

수 있을 것이다.

- [0242] 예를 들어, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 "치료적 유효량"은 질병 단계(예를 들어, 급성 대만성), 연령, 성별, 의학적 합병증(예를 들어, HIV 동시 감염, 면역 억제 상태 또는 질병) 및 대상체의 체중과 같은 요인, 및 대상체에서 원하는 반응을 이끌어내는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 능력에 따라 다양할 수 있다. 투여 요법은 최적의 치료 반응을 제공하도록 조정될 수 있다. 예를 들어, 여러 분할 용량을 매일 투여하거나 치료 상황의 긴급성에 따라 용량을 비례적으로 감소시킬 수 있다.
- [0243] 일반적으로, 본 발명에서 제공된 조성물은 감염되지 않은 세포를 예방적으로 치료하거나, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 의한 HBV-감염 세포의 표적화를 가능하게 하는 항원성 마커를 포함하는 임의의 HBV-감염 세포를 치료적으로 치료하는 데 사용될 수 있다.
- [0244] 약학적 조성물 및 이의 투여
- [0245] 특정 구체예에서, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열 (백터 또는 백터 시스템 포함)은 약학적 조성물에 포함된다. 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열을 제조 및 대상체에게 투여하는 방법은 이 명세서 및 당업계에서의 지식을 지침으로 사용하는 당업자에게 잘 알려져 있거나 쉽게 결정할 수 있다. 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열의 투여 경로는 경구, 비경구, 흡입 또는 국소일 수 있다. 본원에 사용된 용어 "비경구"는 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장 또는 질 투여를 포함한다. 이러한 모든 형태의 투여가 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 명백히 고려되지만, 투여를 위한 형태는 주사용 용액, 특히 정맥내 또는 동맥내 주사 또는 점적액일 수 있다. 일반적으로, 주사용으로 적합한 약학적 조성물은 완충제(예를 들어, 아세테이트, 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 계면활성제(예를 들어, 폴리소르베이트), 선택적으로 안정화제(예를 들어, 인간 알부민) 등을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 완충제는 아세테이트이다. 또 다른 구체예에서, 완충제는 포르메이트이다. 또 다른 구체예에서, 완충제는 시트레이트이다. 관련된 구체예에서, 계면활성제는 플루로닉, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤 및 킬복사팔을 포함하는 목록으로부터 선택될 수 있다. 바람직한 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트이다. 보다 바람직한 구체예에서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 폴리소르베이트 100, 바람직하게는 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80이다.
- [0246] 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이를 인코딩하는 핵산 서열은 유해한 세포 집단(예를 들어, 간)의 부위에 직접 전달될 수 있으며, 이에 의해 치료제에 대한 병든 조직의 노출을 증가시킬 수 있다.
- [0247] 비경구 투여를 위한 제제는 멸균된 수성 또는 비수성 용액, 현탁액 및 유제를 포함한다. 비수성 용매의 예로는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸 올레에이트와 같은 주사 가능한 유기 에스테르 등이 있다. 수성 담체에는 물, 알코올/수성 용액, 염수 및 완충 매질을 포함한 에멀전 또는 현탁액이 포함된다. 본 발명의 조성물 및 방법에서, 약학적으로 허용가능한 담체는 0.01-0.1 M, 예를 들어 0.05 M 인산염 완충액 또는 0.8% 식염수를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 다른 일반적인 비경구 비히클에는 인산나트륨 용액, 링거의 덱스트로스(Ringer's dextrose), 덱스트로스 및 염화나트륨, 젖산 링거(lactated Ringer's) 또는 고정 오일이 포함된다. 정맥내 비히클은 유체 및 영양 보충제, 전해질 보충제, 예를 들어 링거의 덱스트로스(Ringer's dextrose)를 기반으로 하는 것과 같은 것을 포함한다. 방부제 및 기타 첨가제, 예를 들어 항미생물제, 항산화제, 킬레이트제 및 불활성 기체 등이 또한 존재할 수 있다. 보다 구체적으로, 주사용으로 적합한 약학적 조성물은 멸균 수용액(수용성인 경우) 또는 멸균 주사용 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 분산액 및 멸균 분말을 포함한다. 이러한 경우에, 조성물은 멸균되어야 하고 용이한 주사가능성이 존재하는 정도로 유동적이어야 한다. 이는 제조 및 보관 조건에서 안정해야 하며 일반적으로 박테리아 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존된다. 담체는 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올(예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액상 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이들의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용, 분산의 경우 필요한 입자 크기의 유지 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.
- [0248] 미생물 작용의 예방은 다양한 항균제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀, 아스코르브산, 티베로살 등에 의해 달성될 수 있다. 많은 경우에 등장화제, 예를 들어 당, 다가알코올, 예를 들어 만니톨, 소르비톨 또는 염화나트륨이 조성물에 포함될 것이다. 주사 가능한 조성물의 연장된 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함함으로써 야기될 수 있다.

- [0249] 여하튼, 멸균 주사 용액은 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산 서열과 같은 활성 화합물을 단독으로 또는 다른 것과 조합하여 혼입함으로써 제조될 수 있다. 필요에 따라 여기에 열거된 성분 중 하나 또는 조합과 함께 적절한 용매에 필요한 양의 활성제를 넣은 후 여과 멸균한다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 멸균 비히클에 혼입하여 제조되며, 이 비히클에는 염기성 분산 매질 및 위에 열거된 것들로부터 필요한 기타 성분이 포함된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 예시적인 제조 방법은 진공 건조 및 동결 건조를 포함하며, 이는 사전에 멸균 여과된 용액으로부터 활성 성분과 임의의 추가의 원하는 성분의 분말을 생성한다. 주사용 제제는 처리되고, 앰플, 백, 병, 주사기 또는 바이알과 같은 용기에 충전되고, 당업계에 공지된 방법에 따라 무균 조건 하에 밀봉된다. 또한, 제제는 키트 형태로 포장되어 판매될 수 있다. 이러한 제조 물품은 전형적으로 관련 조성물이 HBV 감염을 앓고 있는 대상체를 치료하는데 유용함을 나타내는 라벨 또는 패키지 삽입물을 가질 것이다.
- [0250] 전술한 HBV 감염 관련 상태의 치료를 위한 본 발명의 조성물의 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학 상태, 환자가 사람인지 동물인지, 투여되는 기타 약물, 치료가 예방적 또는 치료적 인지를 포함하는 많은 다른 요인에 따라 달라진다. 일반적으로 환자는 인간이지만, 형질전환 포유동물, 특히 비인간 영장류를 비롯한 비인간 포유동물도 치료될 수 있다. 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화하기 위해 당업자에게 공지된 일상적인 방법을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0251] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 사용한 치료의 경우 투여량 범위는 예를 들어, 약 0.0001 내지 약 100 mg/kg, 및 보다 일반적으로 약 0.01 내지 약 5 mg/kg(예를 들어, 약 0.02 mg/kg, 약 0.25 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 0.75 mg/kg, 숙주 체중의 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg 등)의 범위일 수 있다. 예를 들어, 투여량은 약 1 mg/kg 체중 또는 약 10 mg/kg 체중 또는 약 1 내지 약 10 mg/kg 범위, 예를 들어 적어도 약 1 mg/kg일 수 있다. 상기 범위의 중간 용량은 또한 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 의도된다. 대상체는 매일, 격일로, 매주 또는 경험적 분석에 의해 결정된 임의의 다른 일정에 따라 이러한 용량을 투여받을 수 있다. 예시적인 치료는 예를 들어, 적어도 6개월의 장기간에 걸친 다중 투여량의 투여를 수반한다. 추가의 예시적인 치료 요법은 약 2 주에 1회 또는 약 1개월에 1회 또는 약 3 내지 6개월에 1회 투여를 수반한다. 예시적인 투여량 일정은 매일 약 1 내지 약 10 mg/kg 또는 약 15 mg/kg, 격일로 약 30 mg/kg 또는 매주 약 60 mg/kg을 포함한다.
- [0252] 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열은 여러 경우에 투여될 수 있다. 단일 투여 사이의 간격은 매주, 매월 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한 환자의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 성분의 혈액 수준을 측정함으로써 지시된 바와 같이 불규칙할 수 있다. 대안으로, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열은 지속 방출 제형으로 투여될 수 있으며, 이 경우 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기에 따라 다르다.
- [0253] 본원에 언급된 용어 "반감기" 또는 " $t_{1/2}$ "는 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질과 같은 화합물의 안정성 및/또는 배출 속도에 관한 것이다. 실제로, 화합물의 반감기는 일반적으로 혈청에서 측정되며 혈청 농도가 투여 당시 혈청 농도의 50%가 되는 투여 후 시간을 나타낸다. 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 마우스에서 긴 혈청 반감기를 특징으로 한다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기는 적어도 50시간, 적어도 60시간, 적어도 70시간, 적어도 80시간, 적어도 90시간 또는 적어도 100시간이다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기는 적어도 100시간이다. 바람직한 구체예에서, 마우스에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기는 116 내지 158시간 범위이다.
- [0254] 단백질의 반감기는 제거와 관련이 있다. 본원에 사용된 용어 "제거" 또는 "제거율"은 단위 시간당 단백질이 제거된 혈장의 부피를 지칭한다. 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 낮다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 10 mL/h/kg 미만, 5 mL/h/kg 미만, 2.5 mL/h/kg 미만, 1 mL/h/kg 미만 또는 0.5 mL/h/kg 미만이다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 5 mL/h/kg 미만이다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 1 mL/h/kg 미만이다. 일부 구체예에서, 마우스에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 0.28 내지 0.49 mL/h/kg의 범위이다.
- [0255] 본원에 사용된 용어 "분포 용적", " V_D ", " V_{SS} " 또는 "겉보기 분포 용적(apparent volume of distribution)"은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질과 같은 투여된 화합물의 총량을 함유하는 데 필요한 이론적인 용적을 지칭한다. 혈장에서 관찰되는 것과 동일한 농도의 본 발명의 결합 단백질은 경구 또는 비경구 투여 후 혈장과 신체의 나머지 부분 사이의 상기 화합물의 분포에 관한 것이다. 특정 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의

분포 용적 V_{ss} 는 500 mL/kg 미만, 400 mL/kg 미만, 300 mL/kg 미만, 200 mL/kg 미만, 또는 100 mL/kg 미만이다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 분포 용적 V_{ss} 는 100 mL/kg 미만이다. 일부 구체예에서, 마우스에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 분포 용적 V_{ss} 는 50 내지 98 mL/kg의 범위이다.

[0256] 또 다른 관련된 약동학적 매개변수는 전신 노출이다. 본원에 사용된 용어 "전신 노출", "AUC" 또는 "곡선하면적 (area under the curve)"은 농도-시간 곡선의 적분을 지칭한다. 전신 노출은 혈장(혈청 또는 혈액) 농도 또는 모화합물 및/또는 대사산물의 AUC로 나타낼 수 있다. 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 그들의 모 항체(CP870,893)보다 더 높은 전신 노출(AUC(0-inf))로 혈액에서 순환한다. 일부 구체예에서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 전신 노출은 적어도 600 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, 적어도 700 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, 적어도 800 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, 적어도 900 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 또는 적어도 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, 바람직하게는 적어도 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$. 일부 구체예에서, 마우스에서 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 전신 노출은 1033 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 내지 1793 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 의 범위이다.

[0257] 이전에 논의된 바와 같이, 본 발명의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 포유동물 장애의 생체내 치료를 위해 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, 개시된 바와 같이 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 투여를 촉진하고 활성제의 안정성을 촉진하도록 제형화될 것임을 이해할 것이다.

[0258] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 생리식염수, 무독성 완충제, 보존제 등과 같은 약학적으로 허용가능한 무독성 무균 담체를 포함할 수 있다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 약학적 유효량은 전형적으로 다음 중 하나 이상을 매개하기에 충분한 양이다: HBV-감염 세포로부터의 HBeAg 방출의 감소; HBV-감염 세포에서 pgRNA 전사의 감소; 및 감염된 세포에서 IFN 신호전달 경로의 자극. 물론, 본 발명의 약학적 조성물은 약학적 유효량의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 제공하기 위해 단일 또는 다중 용량으로 투여될 수 있다.

[0259] 본 발명의 범위를 유지하면서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열은 치료 효과를 일으키기에 충분한 양으로 전술한 치료 방법에 따라 인간 또는 다른 동물에게 투여될 수 있다. 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열을 공지된 기술에 따라 통상적인 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 함께 조합함으로써 제조된 통상적인 투여 형태로 이러한 인간 또는 다른 동물에게 투여될 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제의 형태 및 특성은 함께 조합되는 유효 성분의 양, 투여 경로 및 기타 잘 알려진 변수에 의해 결정된다는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다. 당업자는 본 발명에 기재된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질 또는 이들 중 임의의 것을 발현하는 핵산 서열의 하나 이상의 종을 포함하는 각테일이 효과적인 것으로 입증될 수 있음을 추가로 이해할 것이다.

[0260] 본 발명에 기술된 방법은 이러한 방법 및 조건이 다양할 수 있으므로 여기에 개시된 특정 방법 및 실험 조건으로 제한되지 않는다는 것을 이해해야 한다. 본원에서 사용된 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위한 것이며, 한정하려는 의도가 아님을 이해해야 한다.

[0261] 또한, 본원에 기술된 실험은 달리 명시되지 않는 한, 당해 분야의 기술 내에서 통상적인 분자 및 세포 생물학적 및 면역학적 기술을 사용한다. 이러한 기술은 숙련된 작업자에게 잘 알려져 있으며 문헌에 충분히 설명되어 있습니다. 예를 들어, Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1987-2008), including all supplements, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Fourth Edition) by MR Green and J. Sambrook and Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Chapter 14, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (2013, 2nd edition) 참조할 것.

[0262] 본원에 사용되는 과학 및 기술 용어는 달리 정의되지 않는 한, 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 잠재적 모호성이 있는 경우 여기에 제공된 정의가 사전 또는 외부 정의보다 우선한다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고 복수 용어는 단수를 포함한다. "또는"의 사용은 달리 명시되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. "함유하는(including)" 및 "함유하다(include)" 및 "함유된(included)"과 같은 다른 형태의 사용은 제한적이지 않다. "포함하는(comprising)"이라는 용어의 사용은 달리 명시되지 않는 한 "구성되는(consisting of)"이라는 용어를 포함해야 한다.

[0263] 일반적으로, 본원에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질 및 핵산 화학 및 혼성화와 관련하여 사용되는 명명법은 잘 알려져 있고 일반적으로 당업계에 사용된다. 본원에 제공된 방법 및 기술은 일반적으로 당업계에 널리 공지된 통상적인 방법에 따라 수행되며 달리 표시되지 않는 한 본 명세서 전체에 걸쳐 인용 및 논의되는 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같다. 효소 반응 및 정제 기술은 당업계에서 일반적으로 달성되거나 본원에 기재된 바와 같이 제조자의 사양에 따라 수행된다.

본원에 기술된 분석 화학, 합성 유기 화학, 의약 및 약학 화학과 관련하여 사용되는 명명법, 실험실 절차 및 기술은 당업계에 널리 공지되고 일반적으로 사용되는 것이다. 표준 기술은 화학 합성, 화학 분석, 약제 준비, 제형, 전달 및 환자 치료에 사용된다.

[0264] 본원에 사용된 섹션 제목은 조직적 목적만을 위한 것이며 설명된 주제를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 기사, 특허 및 특허 출원의 내용과 본원에 언급되거나 인용된 기타 모든 문서 및 전자적으로 이용 가능한 정보는 각 개별 간행물이 참조로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 그 전체가 참조로 통합된다. 신청자는 이러한 기사, 특허, 특허 출원 또는 기타 물리적 및 전자 문서의 모든 자료와 정보를 이 출원에 물리적으로 통합할 수 있는 권리를 보유한다.

[0265] 본 발명이 그 특정 구체예를 참조하여 설명되었지만, 본 개시내용을 지침으로 사용하여 본 발명의 진정한 정신 및 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변경이 이루어질 수 있고 균등물이 대체될 수 있음이 당업자에 의해 이해되어야 한다. 이제 특정 구체예를 상세히 설명하였지만, 이는 단지 예시의 목적으로 포함되고 제한하려는 의도가 아닌 하기 실시예를 참조하여 더욱 명확하게 이해될 것이다.

[0266] [실시예]

[0267] 실시예 I: 인터페론-융합된 항체(IFA)의 생성 및 리포터 세포에 대한 특성규명

[0268] I.a - IFA 설계

[0269] IFN의 위치 및 링커의 성질과 함께 백본 항체로서 CP870,893 작용제 항-CD40 항체로 설계된 예시적인 IFA의 서열 조합은 표 7 및 표 8에 나열되어 있다. IFN은 표 7에 나타난 바와 같이 경쇄(LC) 또는 중쇄(HC)의 N- 또는 C-말단 부분에서 링커를 통해 융합되었다. HC, LC 또는 융합체를 인코딩하는 핵산을 최적화된 포유동물 발현 코돈으로 합성하고 pcDNA3.1(Invitrogen)과 같은 진핵생물 발현 벡터에 클로닝하였다. 도 2a는 pCMV 프로모터의 제어 하에서 SEQ ID NO: 32를 인코딩하는 pcDNA3.1 플라스미드의 예시적인 지도를 도시한다.

[0270] I.b - IFA 생산

[0271] Freestyle 293-F 세포(Invitrogen)는 4/6의 HC/LC 비율에서 HC와 LC를 모두 인코딩하는 플라스미드로 일시적으로 공동형질감염되었다. 형질감염 6일 후, 상등액을 수집하고, 원심분리하며, 0.22 μ m 필터를 통해 여과하였다. 정제 과정은 5 mL/분의 유속으로 Protein A MabSelect Sure 5 mL 1.6/2.5 cm 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 AktaExpress 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare)에서 두 가지 정제 단계로 수행되었다. 샘플 결합은 D-PBS1X pH 7.5 완충액에서 수행되었고, 글리신/HCl 0.1 M pH 3.0 완충액으로 용출되었다. 용출 피크를 루프에 저장한 다음 D-PBS1XpH 7.5 완충액에서 10 mL/분의 유속으로 HiTrap 탈염 26/10 컬럼(GE Healthcare)에 주입하였다. 용출 피크를 96-웰 마이크로플레이트(2 mL 분획)에서 수집하였다. 풀은 UV 피크 프로파일에 따라 수행되었다. 0.22 μ m 필터(Sartorius MiniSart)에서 여과한 후, 순도 및 올리고머를 결정하기 위한 SEC 200 Increase 10/300 컬럼(GE Healthcare) 및 MES SDS 러닝 완충액 중의 NuPAGE 겔 시스템(Invitrogen)의 환원 및 비환원 조건 하에서 SDS-PAGE를 이용하여 Endosafe® nexgen-PTS™(Charles River), 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 세균성 내독소를 포함하는 품질 관리를 수행하였다. 생산 수율은 표 8에 나와 있다. 일부 IFA의 경우 생산 수율이 매우 낮았다. 그 경우, 작용제 CD40 활성화 및 IFN 활성화는 추가 정제 없이 IFA를 함유하는 상등액을 사용하여 직접 평가하였다.

[0272] 정제된 IFA의 감소된 SDS-PAGE 분석은 HC 및 LC에 해당하는 두 개의 주요 밴드의 존재를 나타낸다. IFN(IFN 계열 구성원이 무엇이든 간에)이 HC에 융합되었을 때, 분자량의 이동이 관찰되었으며 모든 IFN과 융합된 LC에서 동일한 현상이 관찰되었다(도 2b).

[0273] I.c - 리포터 세포에서 IFA 특성규명

[0274] HEK-Blue™ CD40L 세포(InvivoGen Cat.#: hkb-cd40) 또는 HEK-Blue™ IFN- α/β 세포(InvivoGen, Cat.#: hkb-ifn $\alpha\beta$)는 각각 CD40 작용제에 의한 NF κ B 경로의 활성화 또는 I형-IFN에 의해 유도된 IFN 경로의 활성화를 모니터링하는 데 사용되었다.

[0275] HEK-Blue™ CD40L 세포는 HEK293 세포를 인간 CD40 유전자 및 NF κ B-유도성 분비 배아 알칼리 인산분해효소(SEAP) 작제물(Invivogen)로 안정적으로 형질감염시켜 CD40 작용제의 생물활성을 측정함으로써 생성되었다. CD40의 자극은 NF κ B 유도 및 SEAP의 생성을 유도하며, 이는 QUANTI-Blue™(Invivogen, Cat.#: rep-qbs2)를 사용하여 상등액에서 검출된다.

- [0276] HEK-Blue™ IFN- α/β 는 인간 IFN α 또는 IFN β 의 활성을 모니터링하는 데 사용된다.
- [0277] 세포를 96웰 플레이트(웰당 50,000개 세포)에 접종하고 각 IFA 또는 대조군에 대해 표시된 농도로 자극하고 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음 상등액을 수집하고 Ensignt 플레이트 판독기 또는 PheraStar(Lab Biotech)에서 QuantiBlue™ 및 620 nm에서 광학 밀도(O.D.) 평가를 사용하여 상등액을 약 30분 동안 인큐베이션한 후 SEAP의 수준을 정량화하였다.
- [0278] HEK-Blue™ 이중 IFN- γ 세포(InvivoGen, Cat.#: hkb-ifng) 또는 HEK-Blue™ IFN- λ (InvivoGen, Cat.#: hkb-ifnl)을 사용하여 II형- 및 III형-IFN의 활성을 각각 모니터링할 수 있다. HEK-Blue™ IFN- γ 세포는 IFN의 활성을 모니터링하도록 설계되었다. HEK-Blue™ 이중 IFN- γ 세포는 생체 활성 인간 IFN γ 의 검출을 가능하게 한다.
- [0279] I.d - 리포터 세포에 대한 IFN- α/β 기반 IFA의 기능적 활성
- [0280] 도 3은 HEK-Blue™ CD40L(도 3a-3b) 및 HEK-Blue™ IFN- α/β 세포에서 표 7에 명시된 바와 같이 IFN β 또는 이의 돌연변이된 버전은 표 7에 나타난 바와 같이 HC에 융합된 IFA의 용량 반응의 예를 나타낸다(도 3c-3d). IFA의 작용제 항-CD40 활성은 표 8에 요약되어 있으며 예는 도 3a 및 도 3b에 나와 있다. 결과는 시험된 모든 IFA가 용량 의존적 방식으로 CD40 경로와 IFN- α/β 경로를 모두 활성화하는 기능을 나타낸다. HC 또는 LC의 C-말단에 대한 융합의 경우 작용제 CD40에 대한 EC₅₀ 값의 범위는 11.1 ng/mL에서 192 ng/mL이다(표 8). 모 항체에 대한 평균 EC₅₀ 값은 도 3에 표시된 실험에서 48 ng/mL 및 57 ng/mL이다. HC 또는 LC의 N-말단에 융합된 IFN을 갖는 IFA는 또한 CD40 경로를 활성화할 수 있었고, 그러나 활성이 정제된 단백질을 사용하지 않고 상등액에서 직접 결정되었기 때문에 이러한 IFA에 대해 정확한 EC₅₀ 값을 결정할 수 없었다(도 3b).
- [0281] 다양한 IFA의 IFN 활성은 표 8에 요약되어 있고 예는 도 3c 내지 3d에 나타내었다. HC 또는 LC의 C-말단에 IFN β 또는 돌연변이된 IFN β (표 7에 명시된 바와 같음)의 융합의 경우, IFN 활성은 0.14 ng/mL 내지 4.5 ng/mL 범위의 EC₅₀ 값을 갖는 링커 서열에 따라 다양하다(도 3c 및 표 8). 도 3d는 N-말단 부분에 융합된 IFN β 을 갖는 IFA가 높은 IFN 활성을 나타낸다는 것을 나타낸다. 음성대조군으로 사용한 모항체는 활성을 나타내지 않았으나, 제조합 IFN β 는 강한 용량 의존적 반응을 보였다. 종합하면, 이들 결과는 위치에 관계없이 표 7에 명시된 바와 같은 IFN β 또는 이의 돌연변이된 버전의 항체의 융합이 역가 면에서 차이가 있지만 두 생물학적 기능을 모두 유지한다는 것을 입증한다.
- [0282] 도 4는 HEK-Blue™ CD40L(도 4a 및 도 4c) 및 HEK-Blue™ IFN- α/β 세포 상에서 IFN α 가 표 7에 나타난 바와 같이 HC 또는 LC에 융합된 IFA의 용량 반응의 예를 나타낸다(도 4b 및 도 4d). 결과는 시험된 모든 IFA가 용량 의존적 방식으로 CD40 경로와 IFN α/β 경로를 모두 활성화하는 기능을 나타낸다. 놀랍게도, 모든 IFN α 기반 IFA에 대해 CD40 경로에 대한 효능은 모 항체의 효능보다 재현 가능하게 더 높았다. IFN α 기반 IFA에 대한 EC₅₀ 값의 범위는 11.1 ng/mL 내지 22.7 ng/mL이고 CP870,893에 대한 EC₅₀의 범위는 30 ng/mL 내지 80 ng/mL이다(평균 EC₅₀ 값: 48 ng/mL).
- [0283] IFA의 IFN 활성은 1.6 ng/mL 내지 5.1 ng/mL 범위의 EC₅₀ 값을 갖는 링커 서열에 따라 다양하다. 동일한 분석에서, 폐길화된 IFN α 2a(Pegasys®)도 약 1 ng/mL의 EC₅₀ 값으로 용량 의존적 방식으로 활성적이었다.
- [0284] I.e - Fc 영역이 없는 IFA의 생성 및 특성규명
- [0285] 본 발명에 따른 적합한 작제물은 또한 Fc 영역이 없는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질일 수 있다. TEV-His 태그에 융합된 CP870,893의 fab 단편의 중쇄를 인코딩하는 작제물을 설계하고(SEQ ID NO: 50) 발현 플라스미드 pcDNA3.1에 클로닝하였다. 이 구성은 앞서 설명한 대로 HEK 세포에서 공동형질전환되며, LC는 SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 또는 SEQ ID NO: 43과 같은 서로 다른 링커를 통해 서로 다른 IFN에 융합된다. 단백질 및/또는 상등액은 리포터 세포 및/또는 PHH의 HBV 감염에 대한 영향에서 평가된다. 치료에 사용하기 위한 작제물이 더 이상 TEV-His 태그를 포함하지 않을 것이라는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다.
- [0286] 이들 작제물은 마찬가지로 본 발명의 구체예이다. Fc 부분이 없는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 HBV 감염에 대해 활성적이다. 이어서, 2개의 IFA가 생성되었고, 이들의 기능적 특징은 실시예 V에 기술되어 있다: IFA50: (SEQ ID NO: 41) + (SEQ ID NO: 50) 및 IFA51: (SEQ ID NO: 42) + (SEQ ID NO: 50).

- [0287] 실시예 II: HVB 감염된 프라이머리 간세포에 대한 IFA의 효과
- [0288] II.a - 프라이머리 인간 간세포에서 HBV 감염에 대한 IFA의 효과
- [0289] 프라이머리 인간 간세포(PHH)에서 HBV 감염에 대한 IFA의 효과를 조사하였다. PHH 세포를 10% 소태아 혈청(FCS)(SH30066.02, Hyclone), 인슐린(19278-5ML, Sigma), 하이드로코르티손(H2270-100MG, Sigma) 및 페니실린/스트렙토마이신(15140, Gibco)이 보충된 William's E GlutaMAX 배지(32551-020, Gibco)에서 96웰 플레이트에 플레이팅하였다(70,000개 세포/웰). 4시간 후, 세포를 행구고 배지를 교체하였다. 다음날, 배지는 마트리겔 함유 배지(0.25mg/mL; 356231, Corning)로 교체되었다. 세포는 5% FCS, 4% PEG 8000(81268, Sigma), 2% DMSO(DMSO-100ML, Sigma) 및 1% 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 InVitroGRO HI 배지(Z99009, Bioreclamation IVT)에서 500~1,000 vge/cell(바이러스 게놈 등가물)의 MOI(Multiplicity Of Infection)로 플레이팅 후 48시간 후에 감염되었다. 감염 16시간 후, 세포를 PBS로 3회 세척하였다. 감염 4일 후, 세포를 무-처리로 유지하거나 도면에 표시된 바와 같이 연속적으로 희석된 IFA로 처리하였다. 처리 3일 후, 배양 상등액을 수집하고 추가 단백질 검출을 위해 -80℃에서 보관하였다.
- [0290] II.b. - HBV e-항원(HBeAg) 방출 평가
- [0291] 세포 배양 상등액의 HBV e-항원(HBeAg) 수준은 제조업체가 설명한 대로 ELISA를 사용하여 측정했으며 결과는 PEI 단위(HBeAg CLIA 96T/K: CL0312-2; Autobio) 또는 발광으로 표시하였다.
- [0292] II.c. - HBV s-항원 (HBsAg) 방출 평가
- [0293] 상등액에서 HBsAg의 정량화는 AutoBio HBsAg CLIA 키트(# CL0310-2)의 프로토콜에 따라 수행되었으며 주요 단계는 다음과 같다. 먼저 샘플을 1X PBS에서 1/5로 희석하였다. 그런 다음 50 μ l의 표준, 대조군 및 희석된 샘플을 웰에 넣었다. 50 μ l의 "효소 접합체" 용액을 각 웰에 첨가한 후 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 이어서, 플레이트 워셔를 사용하여 키트의 세척 용액 300 μ l로 플레이트를 6회 세척하였다. 그런 다음 50 μ l의 "기질 용액"(시약 A 및 B의 부피 대 부피 혼합)을 각 웰에 첨가하고 암실에서 10분간 배양을 수행하였다. 그 다음 플레이트는 발광 모드에서 PHERASTAR 마이크로플레이트 판독기(BMG Labtech)에서 판독되었다.
- [0294] II.d. - pgRNA 정량화
- [0295] qPCR 기술을 사용하여 시험 화합물로 처리된 감염된 세포에서 pgRNA의 발현 수준을 비교하였다. 감염된 세포의 pgRNA 정량은 QuantStudio 12K Flex를 사용하여 96-웰 플레이트에서 수행하였다. cDNA는 RT로 얻은 다음 TaqMan Fast Virus 분석을 통해 한 단계로 qPCR을 수행하였다(ThermoFisher cat# 4444434). 결과는 $\Delta\Delta C_t$ 방법으로 처리되었으며 이 중에서 하우스키핑 유전자 GUSB로 정규화되었다. pgRNA는 다음 프라이머와 프로브를 사용하여 증폭되었다: (정방향: CCTCACCATACTGCACTCA, 역방향: GAGGGAGTTCCTCTCTAGG, AGTGTGGATTGCACTCCTCCAGC를 프로브로 사용). GUSB 유전자는 Thermo Fisher(Hs99999908-m1)의 TaqMan 분석을 사용하여 증폭되었다.
- [0296] II.e. - CXCL10 방출
- [0297] CXCL10 방출은 제조업체의 설명서(BioLegend 439904)에 따라 ELISA 키트를 사용하여 평가되었다. 샘플을 1/50으로 희석하고 450nm에서 EnSight 마이크로플레이트 판독기에서 발광성을 평가하였다.
- [0298] II.f - HBV 감염에 대한 IFN α/β 기반 IFA의 효과
- [0299] 여러 IFA가 PHH의 HBV 감염 후 HBeAg 분비를 감소시키는 능력에 대해 시험되었다. 도 5에서, LC의 C-말단에 융합된 IFN β 또는 이의 돌연변이된 버전을 갖는 IFA가 사용되었다. 결과는 시험된 모든 IFA가 HBeAg 방출을 강력하게 감소시킨다는 것을 나타낸다. 실제로, IFA에 따라 시험된 가장 낮은 농도(1 ng/mL)에서도 HBeAg 방출의 70 내지 90% 억제가 관찰되어 강력한 항바이러스 효과가 부여되었음을 보여준다. 이 실험에서는 100% 억제에 도달할 수 없었다. 치료가 감염 4일 후에 시작되었고 그 당시 HBeAg(mRNA 및 단백질)의 기존 풀이 이미 세포에 존재하고 그 후에도 계속 생성되기 때문이다.
- [0300] IFN α 에 융합된 IFA의 효과는 HBV에 감염된 PHH에서도 시험되었다. 도 6은 이러한 IFA가 HC의 C-말단에 융합된 IFN α 2a가 있는 IFA의 경우 0.06 ng/mL 내지 0.2 ng/mL의 범위(IFA25: 0.16 ng/mL, IFA26: 0.1 ng/mL, IFA27: 0.06 ng/mL 및 IFA38: ~0.2 ng/mL(~2.2 pM); 도 6a 및 도 6c) 및 LC의 C-말단에 융합된 IFN α 2a가 있는 IFA의 경우 0.15 ng/mL 내지 0.36 ng/mL의 범위의 EC₅₀ 값으로 HBV 감염에 매우 강력하다는 것을 보여준다(IFA28: 0.36 ng/mL; IFA29: 0.15 ng/mL; IFA30: 0.31 ng/mL; 및 IFA39: ~0.3 ng/mL (~3 pM); 도 6b 및 도 6c). Pegasys의 항바이러스 효과를 IFA38 및 IFA39와 비교하기 위해 결과를 pM으로 표시하며, Pegasys의 EC₅₀은

IFA38의 ~2.2 pM 및 IFA39의 ~3 pM과 비교하여 ~250 pM이며, 이는 IFA가 Pegasys보다 훨씬 더 강력함을 시사한다.

[0301] II.g - 단기 치료는 강력한 항바이러스 활성을 유도하기에 충분하다

[0302] HBV에 감염된 프라이머리 간세포에 대한 단기 IFA 치료의 효과를 평가하기 위해, 세포를 감염시키고 4일 동안 인큐베이션하며, IFA25, IFA27, IFA28, IFA30 또는 Pegasys로 용량 의존적 방식으로 24시간 동안 처리하고, 세척한 다음, 어떠한 처리 없이 새로운 배지로 인큐베이션하였다. 3일 후, 상등액을 수집하여 HBeAG(도 6e), HBsAG(도 6f) 및 CXCL10(도 6h) 방출 수준을 평가하고 세포를 용해하고 pgRNA의 정량을 위해 RNA를 추출하였다(도 6g). 결과는 시험된 모든 IFA가 HBeAG 및 HBsAG 방출뿐만 아니라 pgRNA 발현을 용량 의존적 방식으로 억제할 수 있음을 나타낸다. Pegasys 단독으로는 HBeAG 방출을 억제하고 pgRNA 수준을 감소시킬 수 있었다. 이와 관련하여 IFA는 바이러스 매개변수에서 Pegasys보다 최소 2 로그 더 활성화되어 있다. 놀랍게도, 시험된 모든 IFA가 HBsAg 방출의 용량 의존적 억제를 나타내었지만, 최고 농도에서도 Pegasys에서 감소가 관찰되지 않았다. IFN 경로의 바이오마커인 CXCL10을 분석한 결과 IFA가 Pegasys보다 훨씬 더 강력한 것으로 나타났다.

[0303] 실시예 III: 사이토카인 방출

[0304] III.a - 인간 전혈 세포의 사이토카인 방출 평가(CRA)

[0305] 전혈 세포(WBC) 생체외 자극 분석을 사용하여 IFA 자극 후 사이토카인의 방출을 조사하였다. 4명의 건강한 공여자로부터 WBC를 수집하고 RPMI1640(72400-021, Gibco)에 1/3로 희석하고 멸균 반응 튜브(300 μ l)에 배포하였다. 세포를 무-자극 상태로 두고 양성 대조군으로서 10 ng/mL의 LPS(LipoPolySaccharide) K12(tlr1-eklps, Invivogen) 또는 1 μ g/mL의 IFA로 자극하고 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 그런 다음 상등액을 수집하고 분석 당일까지 -20°C에서 동결하였다.

[0306] 인간 전염증성 사이토카인은 종양 괴사 인자(TNF)- α , 인터루킨(IL)-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12/IL-23p40 및 IFN γ 를 측정하는 MSD 분석(K15067L-4)을 이용하여 분석되었다. MSD 플레이트는 1300 MESO QuickPlex SQ120 장치(MSD)에서 분석되었다.

[0307] 도 7은 무-자극, LPS 또는 IFA1로 처리된 인간 WBC의 시험관내 사이토카인 방출 평가로부터의 예시적인 결과를 도시한다.

[0308] IFN β -/돌연변이된 IFN β - 및 IFN α - 기반 IFA를 시험한 추가 결과는 표 9a 및 9b에 요약되어 있다. 결과는 모든 공여자에 대해 LPS가 매우 높은 수준의 염증성 사이토카인(IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-12p40 및 IFN γ)을 유도한다는 것을 보여준다. 또한 IFN 경로의 바이오마커인 IP10(CXCL10)과 중간 수준의 IL-10을 유도하였다. 2개의 IFN β -(표 9a) 및 6개의 IFN α -(표 9b) 기반 IFA를 시험하였다. 이들 모두는 바이오마커 IP10을 유도하였다. 그러나 IL-10, IL-1 β , IL-2는 유도하지 않았고, IFN γ , IL-6, TNF- α 는 매우 낮거나 중간 정도만 유도하였고, 따라서 염증성 사이토카인의 유도와 관련하여 유리한 안전성 프로파일을 제안한다.

[0309] 실시예 IV: 약동학 연구

[0310] IV.a - IFA 정량화를 위한 ELISA 분석 개발

[0311] ELISA 정량화를 위해 96-웰 플레이트(PLATES 96 wells Maxisorp, THERMO Scientifique; 442404)는 100 μ l의 인간 IgG1(CD40-Fc; R&D Systems; 1493-CDB-050)의 Fc 부분에 융합된 인간 CD40의 세포외 도메인으로 구성된 재조합 인간 CD40/TNFRSF5 Fc 키메라 단백질을 탄산나트륨(0.05M, pH 9.6, C-3041, Sigma) 중 0.5 μ g/mL로 4°C에서 밤새 코팅되었다. 뒤집어서 비운 후 플레이트를 PBS - 0.05% Tween20 - 1% Milk(SIGMA; 70166-500g)와 함께 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션한 다음 PBS-0.05% Tween20으로 세척하였다. 그런 다음 샘플 및 대조군(1/2 연속 희석액 100 μ l)을 37°C에서 90분 동안 배양한 다음 세 번 세척(PBS - 0.05% Tween20)하고 PBS - 0.05% Tween20 - 1% Milk 중의 이차 항-IgG2-접합체 HRP(1/5000, ab99779, Abcam) 항체 또는 항-IFN α 접합체 HRP(1/1000, eBIOSCIENCE/Invitrogen; BMS216MST)와 인큐베이션 하였다. PBS로 3회 세척한 후, 0.05% Tween2, TMB(Tetramethylbenzidine, Tebu Bio; TMBW-1000-01)를 첨가하고 플레이트를 암실에서 20분 동안 인큐베이션하였다. 1M HCl을 첨가하여 반응을 중단시켰다. Ensign 플레이트 판독기(Perkin Elmer)를 사용하여 450-650 nm에서 플레이트를 판독하였다. Pegasys의 정량화는 유사한 프로토콜 단계를 사용하여 평가되었지만 eBioscience/Invitrogen의 인간 IFN α 일치된 항체 쌍을 사용하였다. 포집은 탄산나트륨(0.05M, pH 9.6, C-3041, Sigma) 중 1 μ g/mL로 100 μ l의 인간 항-IFN α 항체(eBioscience/Invitrogen; BMS216MST)를 사용하여 수행되었다. 검출을 위해 PBS - 0.05% Tween20 - 1% Milk 중 이차 항-IFN α 접합체 HRP 항체(1/1000, Affymetrix

eBioscience/BMS216MST; 15501707)를 적용하였다.

- [0312] IV.b - 마우스의 생체내 생체이용률
- [0313] PK 매개변수를 결정하기 위해 CP870,893, IFA25, IFA26, IFA27, IFA28, IFA29 및 IFA30을 0.5 mg/kg으로, Pegasys를 0.3 mg/kg으로 i.v. 수컷 CD1-Swiss 마우스에 볼루스를 투여하고 혈액 샘플을 다른 시점에서 수집하였다. 위에서 설명되고 항-IFN α -접합된 HRP로 밝혀진 ELISA 접근법을 사용한 순환 분자의 정량화의 예는 도 8A 및 8B에 나와 있다. 항-IgG2-접합 HRP로 밝혀진 정량화의 예는 도 8C에 도시되어 있고; Pegasys 정량화는 도 8D에 나와 있다. 표 10A에 요약된 한 세트의 실험에서, CP870,893에 대한 PK 매개변수는 7일 실험에서 탐색되고, IFA27, IFA29 및 IFA30에 대한 PK 매개변수는 10일 실험에서 탐색되었다(IFA27에 대한 정량화는 2가지 상이한 ELISA 접근법을 사용하여 수행됨). 표 10B에 요약된 다른 실험 세트에서, CP870,893 및 IFA25, IFA26, IFA28 및 Pegasys에 대한 PK 매개변수는 21일 실험에서 조사되었다(IFA25에 대한 정량은 2가지 다른 ELISA 접근법을 사용하여 수행됨).
- [0314] 짧은 분포 단계 후, IFA의 약동학 프로파일은 116 내지 218시간 범위의 긴 혈청 반감기를 특징으로 한다(표 10A 및 표 10B). 단일 용량 투여 후 10일에도 높은 순환 수준을 갖는 6개의 시험된 IFA에 대해 매우 유사한 PK 프로파일이 얻어졌다. 표 10A/B에 요약된 약동학 매개변수는 이들 IFA가 모 항체 CP870,893의 경우 각각 590 또는 797 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ (최대 3.2배)이며, IFA에 대한 더 낮은 제거 값도 반영한다. 분포 용적 V_{ss} 는 낮았고 이 종의 혈장 혈관 용적(50 mL/kg)보다 약간 높은 50에서 105 mL/kg까지 순위가 매겨졌다. 모든 IFA에 대해 제거율은 낮음(0.28 ~ 0.49 mL/h/kg)으로 순위가 매겨졌다. 흥미롭게도 Pegasys의 제거율(1.4 mL/hr/kg)은 IFA의 제거율(예: IFA27의 경우 0.2 mL/hr/kg)보다 최대 7배 더 높으며 이는 IFA의 전신 노출이 더 높음을 보여준다.
- [0315] 실시예 V
- [0316] V.a - 리포터 세포 및 HBV 감염에 대한 Fc 영역이 없는 IFA의 기능적 활성
- [0317] IFA의 Fc 부분이 활성에 필요한지 여부를 결정하기 위해 HC의 Fab 단편과 관련된 LC의 C-말단 부분에 대한 IFN α 의 용합을 설계하고 생산하였다. IFN α 는 (G4S)2(IFA50) 또는 (G4S)3(IFA51) 링커를 이용하여 LC 부분에 연결되었다.
- [0318] HEK-Blue™ CD40L 세포에 대한 평가는 그러한 IFA가 여전히 작용제 CD40 활성을 나타내고(도 9A), 각각 약 128 ng/mL(IFA50) 및 123 ng/mL(IFA51)의 EC_{50} 값으로 CD40 경로를 활성화한다.
- [0319] HEK-Blue™ IFN- α/β 세포에 대한 IFN 활성의 평가는 시험된 IFA 둘 다 IFN 활성을 나타내는 것으로 나타났다(도 9B). EC_{50} 값은 표 8B에 보고되어 있으며 IFA50의 경우 약 1.36 ng/mL 및 IFA51의 경우 1.43 ng/mL이다.
- [0320] 두 IFA는 앞서 기술한 바와 같이 HBV 감염에 대해 시험되었으며 두 IFA는 각각 약 4.1 pM(IFA50) 및 2.7 pM(IFA51)의 EC_{50} 값으로 강력한 항바이러스 활성을 나타낸다.
- [0321] V.b - 리포터 세포 및 HBV 감염에 대한 IFN β 기반 IFA의 기능적 활성
- [0322] 세 번째 유형 I 인터페론(IFN ϵ 실론, IFN ϵ)에 대한 CP870,893의 용합도 설계 및 생산되었다. 이러한 IFA는 HEK-Blue™ CD40L 세포에 대해 시험되었으며 작용제 CD40 활성을 유지함을 입증할 수 있었다. 그러한 IFA(IFA49) 중 하나에 대한 결과가 도 10A에 나와 있다. HEK-Blue™ hIFN- α/β 세포(사실상 I형 인터페론에 의해 활성화됨)에 대한 평가는 IFA49가 또한 IFN-I-경로를 활성화할 수 있음을 보여주었다(도 10B). EC_{50} 값은 표 8B에 보고되어 있다. 또한, IFA49도 프라이머리 간세포에서 HBV 감염에 대해 시험하였고, Pegasys와 유사한 활성을 나타내었다(도 10C).
- [0323] 이러한 결과는 IFN ϵ 이 있는 IFA가 IFN 및 작용제 CD40 활성을 모두 유지하고(즉, 이중기능적임) 항바이러스 활성을 갖는다는 것을 입증한다.
- [0324] V.c - 리포터 세포 및 HBV 감염에 대한 IFN ω 기반 IFA의 기능적 활성
- [0325] 네 번째 유형 I 인터페론(IFN 오메가; IFN ω)에 대한 CP870,893의 용합도 설계 및 생산되었다. 이러한 IFA는 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 시험되었으며 결과는 이것이 작용제 CD40 활성을 유지한다는 것을 보여주었다. 그러한 IFA(IFA46) 중 하나에 대한 결과는 도 11A에 나와 있다. HEK-Blue™ hIFN- α/β 세포(사실상 I형 인터페론에 의해 활성화됨)에 대한 평가는 IFA46이 또한 IFN-I-경로를 활성화할 수 있음을 보여주었다(도 11B). EC_{50} 값은 표 8B에 보고되어 있다. 또한, IFA46도 프라이머리 간세포에서 HBV 감염에 대해 시험하였고, Pegasys와 유사한

활성을 나타내었다(도 11C).

[0326] 이러한 결과는 IFN ω 를 갖는 IFA가 IFN 및 작용제 CD40 활성을 모두 유지하고(즉, 이중기능적임) 항바이러스 활성을 갖는다는 것을 입증한다.

[0327] V.d - 리포터 세포 및 HBV 감염에 대한 IFN γ 기반 IFA의 기능적 활성

[0328] CP870,893과 II형 인터페론(IFN 감마, IFN γ)의 융합도 설계 및 생산되었다. HEK-Blue™ CD40L 세포에 대한 이러한 IFA의 평가는 IFN γ 가 LC(IFA42) 또는 HC(IFA43)의 C-말단 부분에 연결되어 있는지 여부에 관계없이 작용제 CD40 활성을 유지한다는 것을 보여준다(도 12A). HEK-Blue™-IFN γ 세포에 대한 이들 IFA의 평가(도 12B)는 이들이 IFN γ -경로를 또한 활성화할 수 있음을 보여주었다. IFN γ 활성은 IFA42(EC₅₀: 15 ng/mL)와 IFA43(EC₅₀: < 0.01 ng/mL) 사이에서 다소 차이가 있었다. EC₅₀ 값은 표 8B에 보고되어 있다. 또한 IFA42 및 IFA43은 앞서 설명한 대로 프라이머리 간세포에서 HBV 감염에 대한 용량 의존적 방식으로 시험되었다. 결과는 두 IFA가 모두 용량 의존적 방식으로 HbeAg 방출을 감소시킨다는 것을 나타내며(도 12C), II형-IFN을 갖는 IFA가 HBV 감염에 활성임을 나타낸다.

[0329] 종합하면, 이들 결과는 IFN γ 를 갖는 IFA가 IFN 및 작용제 CD40 활성 둘 다를 유지하고(즉, 이중기능적임) 항바이러스 활성을 갖는다는 것을 입증한다.

[0330] V.e - 리포터 세포 및 HBV 감염에 대한 IFN λ 기반 IFA의 기능적 활성

[0331] CP870,893과 III형 인터페론(IFN 람다, IFN λ)의 융합도 설계 및 생산되었다. 이 IFA는 HEK-Blue™ CD40L 세포에서 시험되었으며 결과는 그들이 또한 IFN λ 가 LC(IFA44) 또는 HC(IFA45)의 C-말단 부분에 연결되었는지 여부에 관계없이 작용제 CD40 활성을 유지한다는 것을 보여주었다(도 13A). HEK-Blue™-IFN λ 세포에 대한 이러한 IFA의 평가는 그들이 IFN λ -경로를 또한 활성화할 수 있음을 보여주었다(도 13B). EC₅₀ 값은 표 8B에 보고되어 있다. 이러한 결과는 또한 IFN λ 가 있는 IFA가 IFN 및 작용제 CD40 활성을 모두 유지함을 입증한다(즉, 이중기능적임).

[0332] IFA44 및 IFA45는 앞에서 설명한 대로 프라이머리 간세포의 HBV 감염에 대해 Pegasys와 비교하여 단일 용량으로 시험되었다. 결과는 두 유형의 IFA가 HbeAg 방출을 각각 65% 및 78% 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 조건에서 Pegasys는 HbeAg 방출을 81% 억제하였다. 이러한 결과는 III형 IFN을 갖는 IFA가 2개의 시험된 IFA에 대해 < 10 nM의 EC₅₀ 값으로 HBV 감염에 대해 활성이 있음을 나타낸다(도 13C).

[0333] 등가물

[0334] 본 발명은 그 사상 또는 본질적인 특징을 일탈하지 않는 범위에서 다른 특정한 형태로 구체화될 수 있다. 따라서 전술한 실시예는 모든 면에서 본 발명을 제한하는 것이 아니라 예시적인 것으로 간주되어야 한다. 따라서 본 발명의 범위는 전술한 설명보다는 첨부된 청구범위에 의해 표시되며, 따라서 청구범위의 등가의 의미 및 범위 내에 있는 모든 변경은 여기에 포함되도록 의도된다.

[0335] 항목

[0336] 상기의 관점에서, 본 발명은 또한 다음 항목에 관한 것으로 이해될 것이다:

[0337] 1. (I) 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편; 및

[0338] (II) 인터페론(IFN) 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은

[0339] (a) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 적어도 90% 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트(Kabat) 정의, 코티아(Chothia) 정의, AbM 정의 또는 CDR의 접촉 정의(contact definition)에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;

[0340] (b) SEQ ID NO: 3 내의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열과 동일한 3개의 경쇄 상보성 결정 영역(CDR); 및 SEQ ID NO: 6 내의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열과 동일한 3개의 중쇄 CDR; 여기서 각각의 CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의, 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의되고; 바람직하게는 각각의 CDR은 카바트의 CDR 정의 또는 코티아의 CDR 정의에 따라 정의되며;

- [0341] (c) SEQ ID NO: 56과 적어도 90% 동일한 상보성 결정 영역(CDR) CDRH1, SEQ ID NO: 57과 적어도 90% 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 적어도 90% 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 적어도 90% 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 적어도 90% 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 적어도 90% 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;
- [0342] (d) SEQ ID NO: 56과 동일한 CDRH1, SEQ ID NO: 57과 동일한 CDRH2 및 SEQ ID NO: 58과 동일한 CDRH3을 포함하는 중쇄 또는 이의 단편; 및 SEQ ID NO: 52와 동일한 CDRL1, SEQ ID NO: 53과 동일한 CDRL2 및 SEQ ID NO: 54와 동일한 CDRL3을 포함하는 경쇄 또는 이의 단편;
- [0343] (e) SEQ ID NO: 51에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역 V_L ; 및/또는 SEQ ID NO: 55에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 V_H ;
- [0344] (f) SEQ ID NO: 12에 기재된 아미노산 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 Fab 영역 중쇄; 또는
- [0345] (g) SEQ ID NO: 3에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 경쇄(LC); 및/또는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49 및 SEQ ID NO: 48로 구성된 군에서 선택된 서열 또는 이들과 적어도 90% 동일한 서열을 포함하는 중쇄(HC)를 포함한다.
- [0346] 2. 항목 1에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, HC는 SEQ ID NO: 6에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0347] 3. 항목 1에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, HC는 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0348] 4. 항목 1에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, HC는 SEQ ID NO: 49에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0349] 5. 항목 1에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, HC는 SEQ ID NO: 48에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0350] 6. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 인간 인터페론이다.
- [0351] 7. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 I형 IFN, II형 IFN 및 III형 IFN으로 구성된 군 또는 이들의 기능성 단편에서 선택된다.
- [0352] 8. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 I형 IFN 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0353] 9. 항목 8에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α , IFN β , IFN ω , 또는 IFN ϵ , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0354] 10. 항목 8에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0355] 11. 항목 8에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0356] 12. 항목 8에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, I형 IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN ϵ 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0357] 13. 항목 1 내지 6 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α , IFN β , IFN γ , IFN λ , IFN ω 또는 IFN ϵ , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0358] 14. 항목 13에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 IFN β , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0359] 15. 항목 14에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0360] 16. 항목 15에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN α 2a 또는

이의 기능성 단편이다.

- [0361] 17. 항목 16에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0362] 18. 항목 14에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN β 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0363] 19. 항목 18에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 은 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0364] 20. 항목 18에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 또는 이의 기능성 단편은 C17S 및 N80Q로부터 선택된 SEQ ID NO: 14에 대해 1개 또는 2개의 아미노산 치환(들)을 포함한다.
- [0365] 21. 항목 20에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 또는 이의 기능성 단편은 SEQ ID NO: 14에 대해 아미노산 치환 C17S를 포함한다.
- [0366] 22. 항목 21에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 은 SEQ ID NO: 15에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0367] 23. 항목 20에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 또는 이의 기능성 단편은 SEQ ID NO: 14에 대해 아미노산 치환 C17S 및 N80Q를 포함한다.
- [0368] 24. 항목 23에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 은 SEQ ID NO: 16에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0369] 25. 항목 13에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN γ 또는 IFN λ , 또는 이들의 기능성 단편이다.
- [0370] 26. 항목 25에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN γ 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0371] 27. 항목 26에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0372] 28. 항목 25에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 IFN λ 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0373] 29. 항목 28에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 또는 이의 기능성 단편은 IFN λ 2 또는 이의 기능성 단편이다.
- [0374] 30. 항목 29에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열 또는 이와 적어도 90% 동일한 서열을 포함한다.
- [0375] 31. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 비공유적으로 결합된다.
- [0376] 32. 항목 31에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 이온성, 반데르발스 및/또는 수소 결합 상호작용을 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 비공유적으로 결합된다.
- [0377] 33. 항목 1 내지 30 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편과 공유적으로 결합된다.
- [0378] 34. 항목 33에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합된다.
- [0379] 35. 항목 34에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된다.
- [0380] 36. 항목 35에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된다.

- [0381] 37. 항목 35에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 C-말단에 융합된다.
- [0382] 38. 항목 34에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된다.
- [0383] 39. 항목 38에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 융합된다.
- [0384] 40. 항목 38에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 융합된다.
- [0385] 41. 항목 34 내지 40 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편, 및 IFN 또는 이의 기능성 단편은 링커를 통해 서로 융합된다.
- [0386] 42. 항목 41에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 (I) 상기 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편; (II) 상기 IFN 또는 이의 기능성 단편; 및 (III) 상기 링커를 형성하는 것 이외의 아미노산을 포함하지 않는다.
- [0387] 43. 항목 1 내지 41 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 (I) 상기 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편; 및 (II) 상기 IFN 또는 이의 기능성 단편을 형성하는 것 이외의 아미노산을 포함하지 않는다.
- [0388] 44. 항목 41 내지 42 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 펩타이드 링커이다.
- [0389] 45. 항목 44에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 또는 적어도 5개의 아미노산을 포함한다.
- [0390] 46. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 4개의 아미노산을 포함한다.
- [0391] 47. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 11개의 아미노산을 포함한다.
- [0392] 48. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 12개의 아미노산을 포함한다.
- [0393] 49. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 13개의 아미노산을 포함한다.
- [0394] 50. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 15개의 아미노산을 포함한다.
- [0395] 51. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 20개의 아미노산을 포함한다.
- [0396] 52. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 21개의 아미노산을 포함한다.
- [0397] 53. 항목 45에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 적어도 24개의 아미노산을 포함한다.
- [0398] 54. 항목 44에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 10개, 최대 20개, 최대 30개, 최대 40개, 최대 50개, 최대 60개, 최대 70개, 최대 80개, 최대 90개, 또는 최대 100개의 아미노산을 포함한다.
- [0399] 55. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 80개의 아미노산을 포함한다.
- [0400] 56. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 40개의 아미노산을 포함한다.
- [0401] 57. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 24개의 아미노산을 포함한다.
- [0402] 58. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 21개의 아미노산을 포함한다.
- [0403] 59. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 20개의 아미노산을 포함한다.
- [0404] 60. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 15개의 아미노산을 포함한다.
- [0405] 61. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 13개의 아미노산을 포함한다.
- [0406] 62. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 12개의 아미노산을 포함한다.
- [0407] 63. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 11개의 아미노산을 포함한다.

- [0408] 64. 항목 54에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 최대 4개의 아미노산을 포함한다.
- [0409] 65. 항목 44 내지 64 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 산성, 염기성 및 중성 링커를 포함하는 군에서 선택된다.
- [0410] 66. 항목 65에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 산성 링커이다.
- [0411] 67. 항목 65 또는 66에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다.
- [0412] 68. 항목 65에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 염기성 링커이다.
- [0413] 69. 항목 65에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 중성 링커이다.
- [0414] 70. 항목 65 또는 69에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.
- [0415] 71. 항목 44 내지 70 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 양성, 가양성 및 나선-형성 링커를 포함하는 군에서 선택된다.
- [0416] 72. 항목 71에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 양성 링커이다.
- [0417] 73. 항목 71 또는 72에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다.
- [0418] 74. 항목 71에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 가양성 링커이다.
- [0419] 75. 항목 71 또는 74에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.
- [0420] 76. 항목 71에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 나선-형성 링커이다.
- [0421] 77. 항목 71 또는 76에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 22 또는 SEQ ID NO: 23에 기재된 서열을 포함한다.
- [0422] 78. 항목 44 내지 66, 68, 69, 71, 72, 74 또는 76 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 아미노산 글리신 및 세린을 포함한다.
- [0423] 79. 항목 78에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.
- [0424] 80. 항목 78에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 아미노산 트레오닌을 더 포함한다.
- [0425] 81. 항목 80에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 21에 기재된 서열을 포함한다.
- [0426] 82. 항목 44에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NOs: 20 내지 26에 기재된 서열에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0427] 83. 항목 82에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 25 또는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0428] 84. 항목 83에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 24에 기재된 서열을 포함한다.
- [0429] 85. 항목 83에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 25에 기재된 서열을 포함한다.
- [0430] 86. 항목 83에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 링커는 SEQ ID NO: 26에 기재된 서열을 포함한다.
- [0431] 87. 항목 41, 42 또는 44 내지 86 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 C-말단에 표 3, 특히 표 3A 또는 표 3B, 보다 상세하게는 표 3A에 기재된 링커를 통해 융합된다.

- [0432] 88. 항목 87에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 49에 기재된 서열을 포함한다.
- [0433] 89. 항목 87 또는 88에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함한다.
- [0434] 90. 항목 87 또는 88에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0435] 91. 항목 90에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함한다.
- [0436] 92. 항목 90에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함한다.
- [0437] 93. 항목 90에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0438] 94. 항목 87 또는 88에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함한다.
- [0439] 95. 항목 87 또는 88에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함한다.
- [0440] 96. 항목 87 내지 95 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 더 포함한다.
- [0441] 97. 항목 96에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 경쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다.
- [0442] 98. 항목 41, 42 또는 44 내지 86 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항 CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄의 N-말단에 표 4, 특히 표 4A, 보다 바람직하게는 표 4A에 기재된 링커를 통해 융합된다.
- [0443] 99. 항목 98에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열을 포함한다.
- [0444] 100. 항목 98 또는 99에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함한다.
- [0445] 101. 항목 98 또는 99에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0446] 102. 항목 101에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함한다.
- [0447] 103. 항목 101에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함한다.
- [0448] 104. 항목 101에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0449] 105. 항목 98 또는 99에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함한다.
- [0450] 106. 항목 98 또는 99에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함한다.
- [0451] 107. 항목 98 내지 106 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항

원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 더 포함한다.

- [0452] 108. 항목 107에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 경쇄는 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다.
- [0453] 109. 항목 41, 42 또는 44 내지 89 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 또는 이의 기능성 단편은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 C-말단에 표 5, 특히 표 5A 또는 표 5B, 보다 바람직하게는 표 5A에 기재된 링커를 통해 융합된다.
- [0454] 110. 항목 109에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체의 경쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함한다.
- [0455] 111. 항목 109 또는 110에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함한다.
- [0456] 112. 항목 109 또는 110에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0457] 113. 항목 112에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함한다.
- [0458] 114. 항목 112에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함한다.
- [0459] 115. 항목 112에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0460] 116. 항목 109 또는 110에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된 서열을 포함한다.
- [0461] 117. 항목 109 또는 110에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함한다.
- [0462] 118. 항목 109 내지 117 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 더 포함한다.
- [0463] 119. 항목 118에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열을 포함한다.
- [0464] 120. 항목 41, 42 또는 44 내지 86 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN은 표 6, 특히 표 6A 또는 표 6B, 더욱 특히 표 6A에 기재된 링커를 통해 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄의 N-말단에 융합된다.
- [0465] 121. 항목 120에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체의 경쇄 또는 이의 작용제 항원 결합 단편은 SEQ ID NO: 3에 제시된 서열을 포함한다.
- [0466] 122. 항목 120 또는 121에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 2a는 SEQ ID NO: 17에 기재된 서열을 포함한다.
- [0467] 123. 항목 120 또는 121에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 또는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0468] 124. 항목 123에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 14에 기재된 서열을 포함한다.
- [0469] 125. 항목 123에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 15에 기재된 서열을 포함한다.
- [0470] 126. 항목 123에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 는 SEQ ID NO: 16에 기재된 서열을 포함한다.
- [0471] 127. 항목 120 또는 121에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 는 SEQ ID NO: 19에 기재된

서열을 포함한다.

- [0472] 128. 항목 120 또는 121에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 2는 SEQ ID NO: 18에 기재된 서열을 포함한다.
- [0473] 129. 항목 120 내지 128 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 더 포함한다.
- [0474] 130. 항목 129에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 작용제 항-CD40 항체의 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 48 또는 SEQ ID NO: 12에 기재된 서열을 포함한다.
- [0475] 131. 항목 1 내지 130 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 46 및 SEQ ID NO: 47에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0476] 132. 항목 131에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 42 또는 SEQ ID NO: 43에서 선택된 서열을 포함한다.
- [0477] 133. 항목 131 또는 132에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 표 9, 특히 표 9A 또는 표 9B, 보다 상세하게는 표 9A에 개시된 서열 조합 중 하나를 포함하는 인터페론-융합 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0478] 134. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 38 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0479] 135. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 39 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0480] 136. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 40 및 SEQ ID NO: 3에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0481] 137. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 41 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0482] 138. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 42 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0483] 139. 항목 133에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 SEQ ID NO: 43 및 SEQ ID NO: 9에 기재된 서열을 포함하는 인터페론-융합된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 인터페론-융합된 작용제 항원 결합 단편이다.
- [0484] 140. 항목 1 내지 139 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 CD40 및 IFN 경로를 모두 활성화한다.
- [0485] 141. 항목 140에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, CD40 활성화는 전혈 표면 분자 상향조절 분석 또는 시험관내 리포터 세포 분석을 사용하여 결정된다.
- [0486] 142. 항목 141에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, CD40 활성화는 임의로 HEK-Blue™ CD40L 세포를 사용하여 시험관내 리포터 세포 분석을 사용하여 결정한다.
- [0487] 143. 항목 140 내지 142 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 400, 300, 200, 150, 100, 70, 60, 50, 40, 30, 25, 20 또는 15 ng/mL 미만의 EC₅₀으로 CD40

경로를 활성화한다.

- [0488] 144. 항목 143에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 10 내지 200 ng/mL 범위의 EC_{50} 으로 CD40 경로를 활성화한다.
- [0489] 145. 항목 144에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 10 내지 50 ng/mL, 바람직하게는 10 내지 30 ng/mL 범위의 EC_{50} 으로 CD40 경로를 활성화한다.
- [0490] 146. 항목 140 내지 145 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 100, 60, 50, 40, 30, 20, 10 또는 1 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 IFN 경로를 활성화한다.
- [0491] 147. 항목 140 내지 146 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 11 ng/mL 미만, 바람직하게는 6 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 IFN 경로를 활성화한다.
- [0492] 148. 항목 140 내지 147 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 경로는 IFN α , IFN β , IFN ϵ , IFN γ , IFN ω 또는 IFN λ 경로이다.
- [0493] 149. 항목 148에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN β 활성화는 임의로 HEK-Blue™ IFN- α/β 세포를 사용하여 시험관내 리포터 세포 분석을 사용하여 결정된다.
- [0494] 150. 항목 148에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN α 활성화는 임의로 HEK-Blue™ IFN- α/β 세포를 사용하여 시험관내 리포터 세포 분석을 사용하여 결정한다.
- [0495] 151. 항목 148에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN γ 활성화는 임의로 HEK-Blue™ Dual IFN- γ 세포를 사용하여 시험관내 리포터 세포 분석을 사용하여 결정한다.
- [0496] 152. 항목 148에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN λ 활성화는 임의로 HEK-Blue™ IFN- λ 세포를 사용하여 시험관내 리포터 세포 검정을 사용하여 결정된다.
- [0497] 153. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 1 ng/mL에서 시험관 내에서 프라이머리 간세포에 의한 HBeAg 방출을 최소 12%까지 감소시킨다.
- [0498] 154. 항목 153에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 1 ng/mL에서 시험관내 프라이머리 간세포에 의한 HBeAg 방출을 최대 90%까지 감소시킨다.
- [0499] 155. 항목 155에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 30 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 HBeAg 방출을 감소시킨다.
- [0500] 156. 항목 155에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 10 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 HBeAg 방출을 감소시킨다.
- [0501] 157. 항목 156에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 1 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 HBeAg 방출을 감소시킨다.
- [0502] 158. 항목 156에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질은 0.1 ng/mL 미만의 EC_{50} 으로 HBeAg 방출을 감소시킨다.
- [0503] 159. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 하나 이상의 IFN 경로 바이오마커의 발현 수준은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 치료시 HBV-감염 세포에서 바람직하게는 적어도 1.5배, 보다 바람직하게는 적어도 2배, 가장 바람직하게는 적어도 3배 상향조절된다.
- [0504] 160. 항목 159에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 경로 바이오마커는 케모카인이다.
- [0505] 161. 항목 160에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 경로 바이오마커는 인터페론 자극된 유전자 ISG20이다.
- [0506] 162. 항목 160에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 경로 바이오마커는 CXCL9, CXCL10 및 CXCL11로 구성된 군에서 선택된 C-X-C 케모카인이다.
- [0507] 163. 항목 162에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IFN 경로 바이오마커는 CXCL10이다.

- [0508] 164. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, IL10, IL1 β 및 IL2 중 하나 이상의 발현 수준은 인터페론-결합된 항원 결합 단백질로 처리시 HBV-감염 세포에서 유의하게 상향조절되지 않는다.
- [0509] 165. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 전신 노출은 항체 CP870,893과 비교하여 바람직하게는 적어도 10%, 보다 바람직하게는 적어도 15%, 가장 바람직하게는 적어도 25% 증가된다.
- [0510] 166. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 전신 노출은 적어도 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 이다.
- [0511] 167. 항목 166에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 전신 노출은 1033 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 내지 1793 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 범위이다.
- [0512] 168. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기는 적어도 100시간이다.
- [0513] 169. 항목 168에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 반감기는 116 내지 158 시간이다.
- [0514] 170. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제거율은 0.5 mL/h/kg 미만이다.
- [0515] 171. 항목 170에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 클리어런스 0.28 내지 0.49 mL/h/kg 범위이다.
- [0516] 172. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 분포 용적 V_{ss} 는 100 mL/kg 미만이다.
- [0517] 173. 항목 172에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 분포 용적 V_{ss} 는 50 내지 98 mL/kg 범위이다.
- [0518] 174. 이전 항목들 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질에 있어서, 용도는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 RNA 또는 DNA 서열, 또는 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 벡터 또는 벡터 시스템을 이용한 유전자 전달을 통해 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함한다 .
- [0519] 175. 이전 항목들 중 어느 하나에 인용된 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 인코딩하는 핵산.
- [0520] 176. 항목 34 내지 174 중 어느 하나에 인용된 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합되는 IFN EH는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산.
- [0521] 177. 항목 176에 따른 핵산에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하고 및 추가로 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 인코딩한다.
- [0522] 178. 항목 177에 따른 핵산에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄는 SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 49 또는 SEQ ID NO: 50에 기재된 서열 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다.
- [0523] 179. 항목 176에 따른 핵산에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하고 및 추가로 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 인코딩한다.
- [0524] 180. 항목 179에 따른 핵산에 있어서, 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄는 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4 또는 SEQ ID NO: 5에 기재된 서열 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과 적어도 95% 동일한 핵산 서열을 포함한다.
- [0525] 181. SEQ ID NOs: 28 내지 47에 기재된 서열 중 임의의 것 또는 이들 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산과

적어도 95% 동일한 서열에 따른 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편에 융합되는 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산.

- [0526] 182. 항목 175 내지 181에 따른 핵산에 있어서, 핵산은 정제 태그를 추가로 인코딩한다.
- [0527] 183. 항목 182에 따른 핵산에 있어서, 정제 태그는 His-태그이다.
- [0528] 184. 항목 182 또는 183에 따른 핵산에 있어서, 핵산은 정제 태그를 절단하는 절단 부위를 추가로 인코딩한다.
- [0529] 185. 항목 184에 따른 핵산에 있어서, SEQ ID NO: 27에 기재된 아미노산 서열을 인코딩하는 서열을 포함한다.
- [0530] 186. 항목 175 내지 185에 따른 핵산에 있어서, 핵산은 신호 펩타이드를 추가로 인코딩한다.
- [0531] 187. 항목 186에 따른 핵산에 있어서, 신호 펩타이드는 분비 신호 펩타이드이다.
- [0532] 188. 항목 186 또는 187에 따른 핵산에 있어서, 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 1 또는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 포함한다.
- [0533] 189. 항목 188에 따른 핵산에 있어서, 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 1에 기재된 서열을 포함한다.
- [0534] 190. 항목 188에 따른 핵산에 있어서, 신호 펩타이드는 SEQ ID NO: 2에 기재된 서열을 포함한다.
- [0535] 191. 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산을 포함하는 벡터 또는 벡터 시스템.
- [0536] 192. (I) 항목 1 내지 174 중 어느 하나의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 항목 1 내지 174 중 어느 하나의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터; 또는
- [0537] (II) 항목 1 내지 174 중 어느 하나의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 중쇄에 융합된 IFN 또는 이의 기능성 단편을 인코딩하는 핵산을 포함하는 제1 벡터; 및 항목 1 내지 174 중 어느 하나의 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 작용제 항-CD40 항체 또는 이의 작용제 항원 결합 단편의 경쇄를 인코딩하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함하는 벡터 시스템.
- [0538] 194. 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터 또는 항목 191 내지 193에 따른 벡터 시스템을 포함하는 조성물
- [0539] 195. 항목 194에 따른 조성물에 있어서, 조성물은 약학적 조성물이다.
- [0540] 196. 항목 195에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 경구, 비경구 또는 국소 투여 또는 흡입에 의한 투여에 적합하다.
- [0541] 197. 항목 196에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 경구 투여에 적합하다.
- [0542] 198. 항목 196에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 국소 투여에 적합하다.
- [0543] 199. 항목 196에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 흡입에 의한 투여에 적합하다.
- [0544] 200. 항목 196에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 비경구 투여에 적합하다.
- [0545] 201. 항목 200에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장 또는 질 투여에 적합하다.
- [0546] 202. 항목 201에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 주사, 바람직하게는 정맥내 또는 동맥내 주사 또는 점적에 적합하다.
- [0547] 203. 항목 195 내지 202 중 어느 하나에 따른 조성물에 있어서, 적어도 하나의 완충제를 포함한다.
- [0548] 204. 항목 203에 따른 조성물에 있어서, 완충제는 아세트레이트, 포르메이트 또는 시트레이트이다.
- [0549] 205. 항목 204에 따른 조성물에 있어서, 완충제는 아세트레이트이다.
- [0550] 206. 항목 204에 따른 조성물에 있어서, 완충제는 포르메이트이다.
- [0551] 207. 항목 204에 따른 조성물에 있어서, 완충제는 시트레이트이다.

- [0552] 208. 항목 195 내지 207 중 어느 하나에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 계면활성제를 포함한다.
- [0553] 209. 항목 208에 따른 조성물에 있어서, 계면활성제는 플루로닉, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤 및 킬록사팔을 포함하는 목록에서 선택된다.
- [0554] 210. 항목 209에 따른 조성물에 있어서, 계면활성제는 폴리소르베이트이다.
- [0555] 211. 항목 210에 따른 조성물에 있어서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 40, 폴리소르베이트 60, 폴리소르베이트 80 또는 폴리소르베이트 100이다.
- [0556] 212. 항목 211에 따른 조성물에 있어서, 계면활성제는 폴리소르베이트 20이다.
- [0557] 213. 항목 211에 따른 조성물에 있어서, 계면활성제는 폴리소르베이트 80이다.
- [0558] 214. 항목 195 내지 213 중 어느 하나에 따른 조성물에 있어서, 약학적 조성물은 안정화제를 포함하고, 선택적으로 안정화제는 알부민이다.
- [0559] 215. 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터 또는 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템을 포함하는 숙주 세포.
- [0560] 216. 항목 215에 따른 숙주 세포를 배양하고 상기 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 회수하는 것을 포함하는 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제조 방법.
- [0561] 217. 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터 또는 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템을 포함하는 비-인간 형질전환 동물 또는 형질전환 식물로, 비-인간 형질전환 동물 또는 형질전환 식물은 상기 핵산을 발현한다.
- [0562] 218. 항목 217에 따른 비-인간 형질전환 동물 또는 형질전환 식물로부터 인터페론-결합된 항원 결합 단백질을 분리하는 것을 포함하는 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질의 제조 방법.
- [0563] 219. 의약으로 사용하기 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0564] 220. 환자에서 B형 간염 바이러스(HBV) 감염의 치료 및/또는 HBV 감염의 하나 이상의 증상의 감소 용도를 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0565] 221. 항목 220의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, B형 간염 바이러스 감염의 치료는 환자에서 HBV 감염의 하나 이상의 증상의 감소를 포함한다.
- [0566] 222. HBV-감염 세포 배양 또는 HBV-감염 환자에서 무처리된 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 같은 환자와 비교하여 HBV 바이러스 로딩을 감소하는데 사용하기 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0567] 223. 항목 222의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV 로딩은 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 감소된다.
- [0568] 224. 항목 222 또는 223의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV 바이러스 로딩은 PCR 또는 qRT-PCR에 의해 결정된다.
- [0569] 225. HBV-감염 세포 배양 또는 HBV-감염 환자에서 무처리 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 같은 환자와 비교하여 HBV 바이러스 역가를 감소하는데 사용하기 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0570] 226. 항목 225의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV 바이러스 역가는 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%,

95% 또는 100% 감소된다.

- [0571] 227. 항목 225 또는 226의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV 바이러스 역가는 PCR 또는 qRT-PCR에 의해 결정된다.
- [0572] 228. HBV-감염 세포 배양 또는 HBV-감염 환자에서 무처리 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 같은 환자와 비교하여 HBV cccDNA의 전사를 감소하는데 사용하기 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0573] 229. 항목 228의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV cccDNA의 전사는 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 감소된다.
- [0574] 230. 항목 228 또는 229의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, HBV cccDNA의 전사는 qPCR에 의해 결정된다.
- [0575] 231. HBV-감염 세포 배양 또는 HBV-감염 환자에서 무처리 HBV-감염 세포 배양 또는 처리 전 같은 환자와 비교하여 프리게놈 HBV RNA의 수준을 감소하는데 사용하기 위한 항목 1 내지 174 중 어느 하나에 따른 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 항목 175 내지 190 중 어느 하나에 따른 핵산, 항목 191에 따른 벡터, 항목 191 내지 193 중 어느 하나에 따른 벡터 시스템 또는 항목 195 내지 214 중 어느 하나에 따른 조성물.
- [0576] 232. 항목 231의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, 프리게놈 HBV RNA의 수준은 약 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% 감소된다.
- [0577] 233. 항목 231 또는 232의 용도를 위한 인터페론-결합된 항원 결합 단백질, 핵산, 벡터, 벡터 시스템 또는 조성물에 있어서, 프리게놈 HBV RNA의 수준은 qRT-PCR에 의해 결정된다.

표 9

IFN- β 기반 IFAs		IFN- γ	IL10	IL12p40	IL1 β	IL2	IL6	IP10	TFN α
NT	donor 1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	457.0	nd
	donor 2	nd	nd	101.4	nd	nd	nd	672.7	4.6
	donor 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	302.3	nd
	donor 4	nd	nd	104.0	nd	nd	nd	648.2	nd
LPS	donor 1	2023.0	148.0	7757.1	5116.0	nd	20709.6	6646.7	1706.3
	donor 2	4675.6	57.2	6265.6	6263.7	20.7	11070.1	39539.4	2987.1
	donor 3	1537.3	192.9	1750.0	3137.6	nd	16837.7	6141.0	944.9
	donor 4	2360.7	299.7	1676.5	6423.0	18.6	20654.0	22848.2	1107.2
IFA1	donor 1	98.1	nd	nd	nd	nd	16.3	46033.6	43.7
	donor 2	nd	nd	118.8	nd	nd	11.8	43545.5	36.6
	donor 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	23562.1	34.0
	donor 4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	31922.5	57.1
IFA2	donor 1	nd	nd	nd	nd	nd	18.6	43382.3	41.0
	donor 2	nd	nd	114.2	nd	nd	17.4	43283.4	33.8
	donor 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	25961.4	32.2
	donor 4	109.4	nd	nd	nd	nd	nd	38445.0	66.0

IFN- α 기반 IFAs		IFN- γ	IL10	IL12p40	IL1 β	IL2	IL6	IP10	TFN α
NT	donor 5	12.6	0.6	91.6	0.9	0.9	3.9	270.3	2.1
	donor 6	5.0	1.1	129.9	19.9	#DIV/0!	423.2	1052.7	16.0
	donor 7	16.5	2.0	143.7	22.1	2.1	426.9	1025.0	12.6
	donor 8	9.7	0.1	58.3	1.8	#DIV/0!	2.6	594.2	2.2
LPS	donor 5	10848.1	46.6	8463.3	8712.3	10.5	30713.2	20538.9	1738.3
	donor 6	2467.1	175.6	5364.9	6557.9	3.3	31735.5	17262.6	2583.3
	donor 7	3310.1	248.6	6814.8	9123.9	16.6	39139.8	59939.2	6270.1
	donor 8	2555.6	138.5	2942.9	6767.5	9.6	31756.7	20062.7	1265.5
IFA25	donor 5	495.5	1.5	99.5	1.9	5.5	30.5	39637.5	30.4
	donor 6	312.2	2.0	129.8	16.5	4.0	51.8	61963.8	71.4
	donor 7	271.2	2.9	130.3	9.1	4.4	75.0	133442.5	30.3
	donor 8	441.6	1.9	74.8	6.8	3.2	44.3	95647.9	87.4
IFA26	donor 5	330.4	2.0	98.1	2.1	6.4	29.3	37880.2	32.1
	donor 6	303.7	3.3	150.8	17.1	3.1	53.0	72944.8	45.7
	donor 7	180.3	2.0	135.6	9.2	4.9	75.2	154696.3	29.7
	donor 8	421.4	2.8	95.7	6.8	4.1	42.1	79768.5	89.1
IFA27	donor 5	430.7	2.2	127.8	3.1	7.1	32.9	40214.1	61.3
	donor 6	286.5	2.0	148.5	16.8	2.1	66.0	83445.0	70.1
	donor 7	350.3	4.7	117.6	9.3	4.4	73.5	195844.6	105.6
	donor 8	440.1	2.6	68.6	8.9	0.6	46.9	102676.8	43.4
IFA28	donor 5	620.1	2.7	127.3	3.4	8.7	35.0	40958.5	24.6
	donor 6	264.7	2.0	170.3	13.6	2.4	45.7	62333.3	33.0
	donor 7	289.6	2.7	144.8	13.7	3.9	77.1	176521.8	59.6
	donor 8	436.2	2.5	74.4	4.9	2.3	36.8	79217.6	37.6
IFA29	donor 5	692.7	1.3	108.7	2.3	3.7	33.9	55062.8	30.3
	donor 6	183.1	2.2	158.8	11.6	0.4	44.4	58665.4	44.3
	donor 7	235.5	2.6	127.6	9.6	2.0	65.6	136893.2	90.5
	donor 8	301.1	3.0	77.7	5.8	0.6	33.8	69226.3	48.0
IFA30	donor 5	709.7	1.2	110.6	2.9	5.5	38.0	63040.7	36.5
	donor 6	122.9	2.0	153.0	14.9	1.7	46.1	67861.2	37.4
	donor 7	64.6	1.0	114.0	10.0	2.9	75.5	149093.0	32.7
	donor 8	206.0	1.9	71.1	6.8	1.8	37.9	85986.9	40.5

[0578]

표 10

A

Matrix	Compound	Dose In-life period	Method	C0 ($\mu\text{g/mL}$)	AUC (0- last) ($\mu\text{g.h/mL}$)	T _{last} (h)	AUC (0- inf) ($\mu\text{g.h/mL}$)	% extrapolatio n	T _{1/2t} (h)	CI (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
Serum	CP870,893	0.5 mg/kg 168h	ELISA- IgG2	7,15	241	168	590	59	264 (long)	0,35 (Low)	296 (Low)
Serum	IFA27	0.5 mg/kg 240h	ELISA- IgG2	14,7	1501	240	2552	41	218 (long)	0,20 (Low)	55 (Low)
Serum	IFA27	0.5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	16,9	1318	240	1793	26	125 (long)	0,28 (Low)	50 (Low)
Serum	IFA29	0.5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	11,6	804	240	1033	22	116 (long)	0,49 (Low)	78 (Low)
Serum	IFA30	0.5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	8,12	741	240	1089	31	158 (long)	0,46 (Low)	98 (Low)

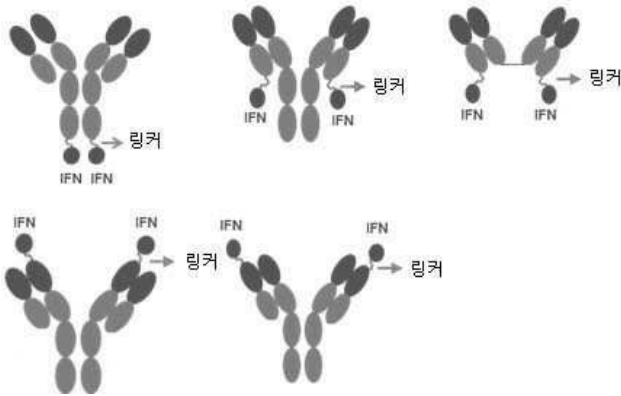
B

Matrix	Compound	Dose In-life period	Method	C0 ($\mu\text{g/mL}$)	AUC (0- last) ($\mu\text{g.h/mL}$)	T _{last} (h)	AUC (0- inf) ($\mu\text{g.h/mL}$)	% extrapolatio n	T _{1/2t} (h)	CI (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
Serum	IFA25	0.5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	7,45	1328	504	1500	11	154 (long)	0,34 (Low)	73 (Low)
Serum	IFA26	0.5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	8,20	988	336	1027	3,8	59 (long)	0,49 (Low)	57 (Low)
Serum	IFA28	0.5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	9,38	1048	504	1264	17	213 (long)	0,40 (Low)	105 (Low)
Serum	Pegasys	0.3 mg/kg 504h	ELISA- IFN α specific	8,3	210	168	215	2	30 (moderate)	1,4 (Low)	62 (Low)
Serum	CP870,893	0.5 mg/kg 504h	ELISA- IgG2	11,9	527	168	797	34	116 (long)	0,63 (Low)	96 (Low)
Serum	IFA25	0.5 mg/kg 504h	ELISA- IgG2	11,8	1292	240	1971	34	155 (long)	0,26 (Low)	56 (Low)

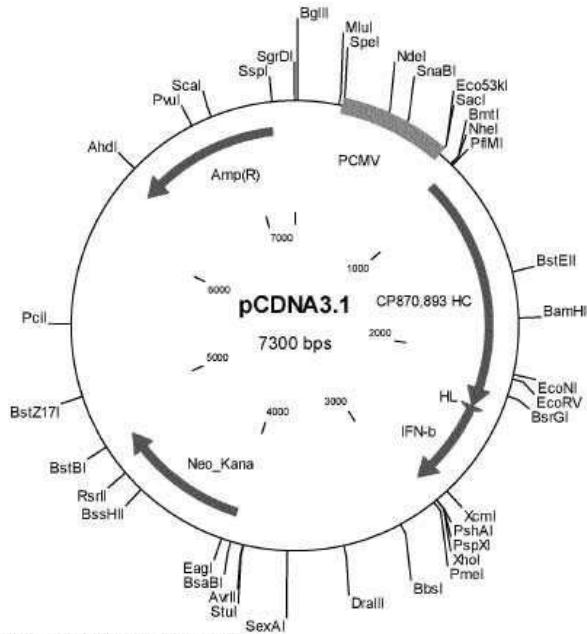
[0579]

도면

도면1



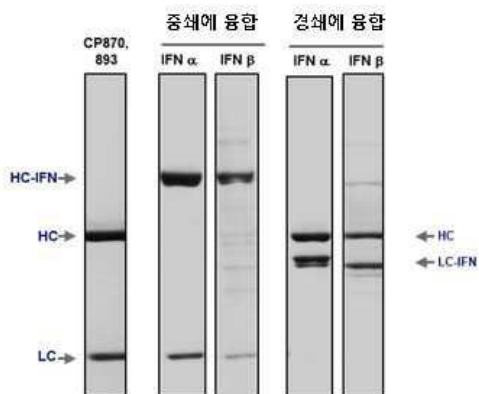
도면2a



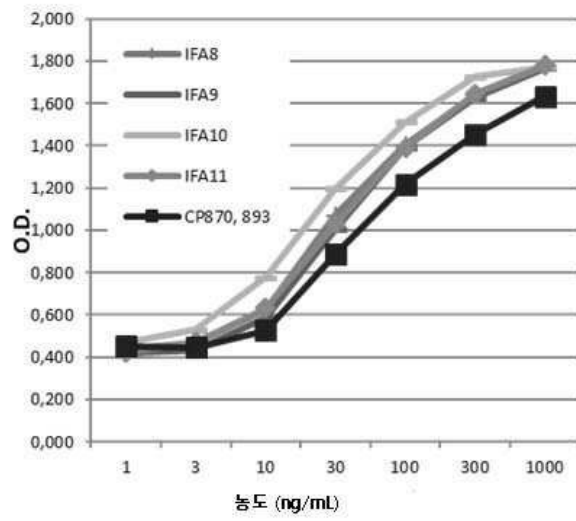
SEQ ID NO: 32를 인코딩하는 핵산 서열

ATGGGCTGGTCTGCATCATTTCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGTGCACTCTCAGGTTCAACTGTTTCACTGTCGCGCCGA
AGTGAAGAAACAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCTGTAAAGCCAGCGGCTACACCTTTACCGGCTACTACATGCACCTGGGTCG
ACAGGCTCCAGGACAGGCACTTGAAGGATGGGCTGGATCAATCTGACAGCGCGGCACCAACTACGCCAGAAATCCAGG
GCAGAGTGACCATGACACAGACACACAGCATCAGCACCCTACATGGAAGTGAACCGGCTGAGATCCGACGACACCGCGCTGT
ACTATTGCGCCAGAGATCAGCCTCTGGGCTACTGCACAAATGGCGTGTGACGACTCTCAGCTACTGGGCGCAGGCGACACTGG
TTACAGTGTCTAGCGCTCTACAAAGGCCCCCTCCGTTTCTCTGGCTCTTGTCTAGAGACACAGCGAGTCTACAGCCGCTC
TGGGCTGTCTGTCAGGACTACTTCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATAGCGAGCACTGACATCCGGCGTGCACACATT
TCCAGCTGTGCTGACAGACAGCGGCTGTACTCTGTCTAGCGTGTGTCACCGTGCCTAGCAGCAATTTCGGCACCCAGACCTAC
ACCTGTAACTGGGACCAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAAACGGAAGTGTGCTGCGTGAATGCCCTCTTGT
CTGTCTCTCAGTGGCGGACCTCCGTTTCTGTTCCCTCAAAGCCTAAGGACACCTGATGATCAGCAGAAACCCCTGAAGT
GACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCAGGAGGATCCGAGGTGCACTCAATGGTACGTGGACGCGTGGAAAGTGCAACAG
CCAAAGCAAGCCTAGAGAGGAACAGTCAACAGCACCTTCAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGGTGCATCAGGACTGGCTGA
ACGCGCAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAGGCGCTGCTGCTCTATCGAGAAACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGC
CTCGGAGCCTCAGGTTTACACACTGCTCCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCTCGTGAAGG
GCTTCTACCTTCCGATATCGCGTGGAAATGGGAGAGCAATGGCCAGCTGAGAACAACCAAGACCACTCCTATGCTGGA
CAGCGACGGCTCATTTCTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGCAACGTGTTCACTGTTCTGT
GATGCACGAGGCGCTGCACAACTACACCAAGTCTGTCTCTGAGCCCTGGCCTGAAGCCGCTCTAAAGAGCTGCC
GCCAAAGCCATGAGCTACAACCTGCTGGGCTTCTGACGCGGAGCAGCAACTTCCAGTGCCAGAAATGCTGTGGCAGCTGAA
TGGCCGCTGGAATACTGCTGAAGGACCGATGAACCTTCGACATCCCGAGGAAATCAAGCAGCTGCAGCAGTTCAGAAA
GAGGACGCGCTGACCATACGAGATGCTGCAGAACATTCGCCATCTCCGCGAGGATAGCAGCAGCAGCGATGGAA
CGAGACAATCGTGGAAATCTGTGGCCAACTGTACACAGATCAACCACTGAAACCGTGTGGAAGAGAAAGTGGAA
AAAGAGGATTCACCCGGGCAAGCTGATGAGCAGCTGCACCTGAAGCGGTACTACGGCAGAACTCTGCACTACCTCAAGG
CCAAAGATATGCCACTGCGCTGGACATCGTGCCTGGAAATCTGCGGAACTTCACTCATCAACAGACTGACCGGCT
ACCTGCGCAACTGA

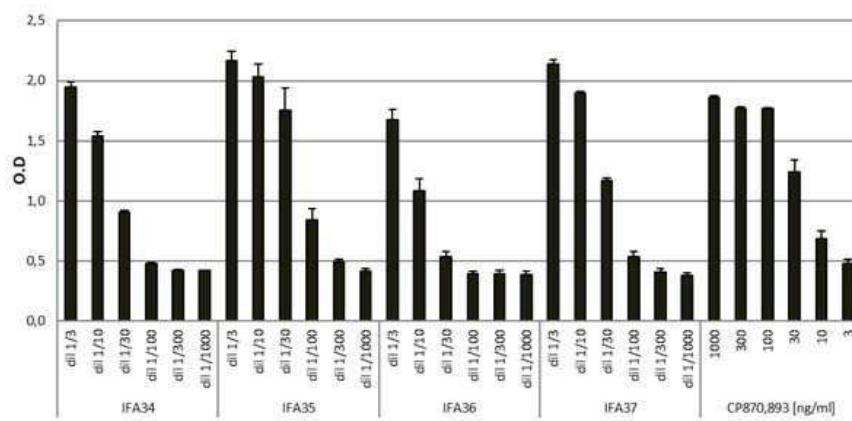
도면2b



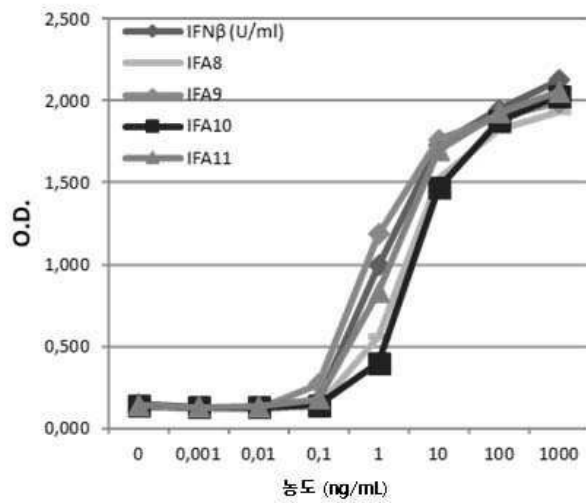
도면3a



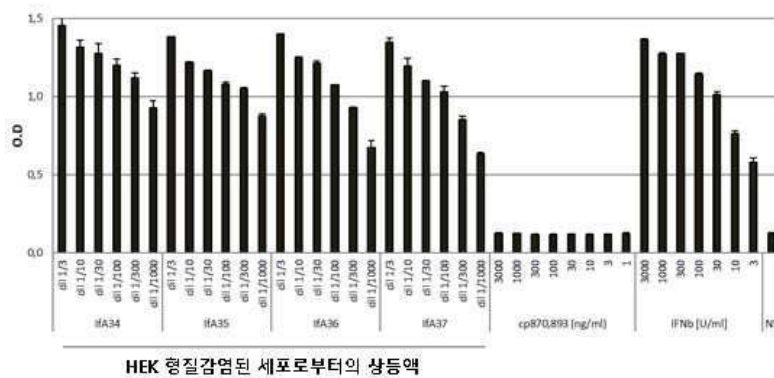
도면3b



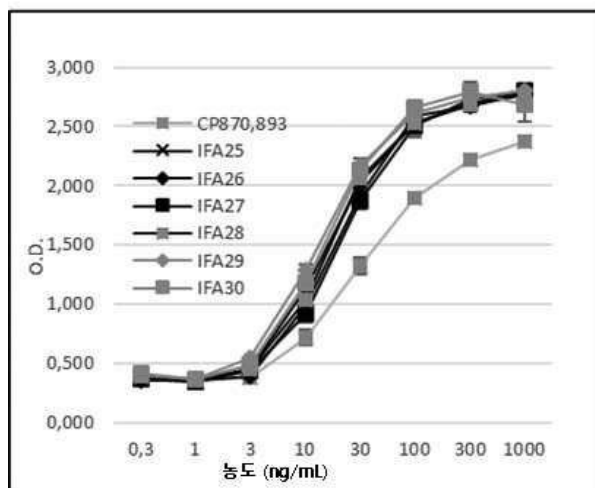
도면3c



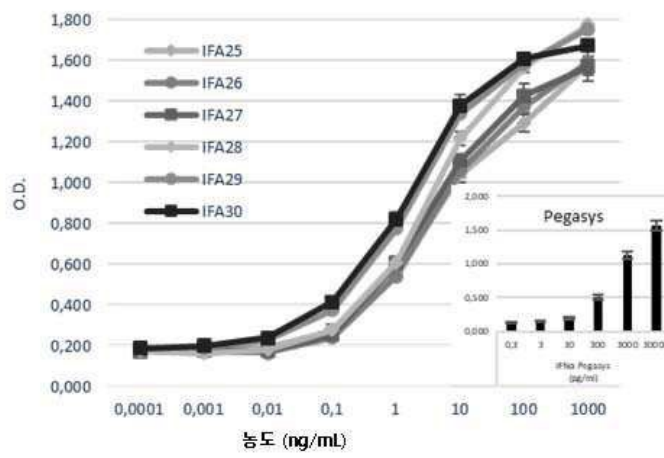
도면3d



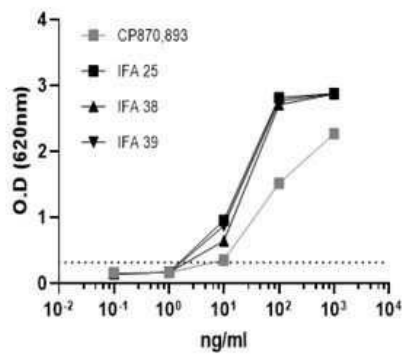
도면4a



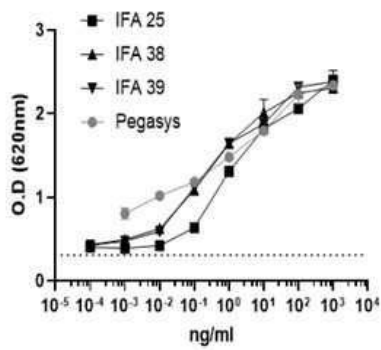
도면4b



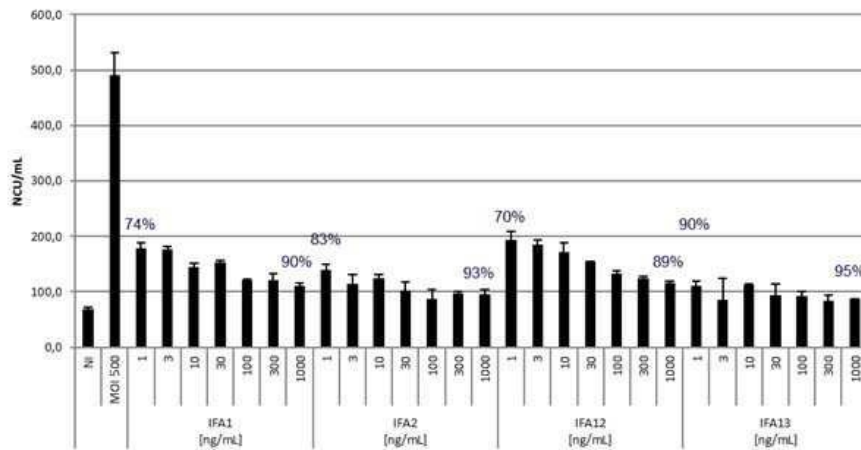
도면4c



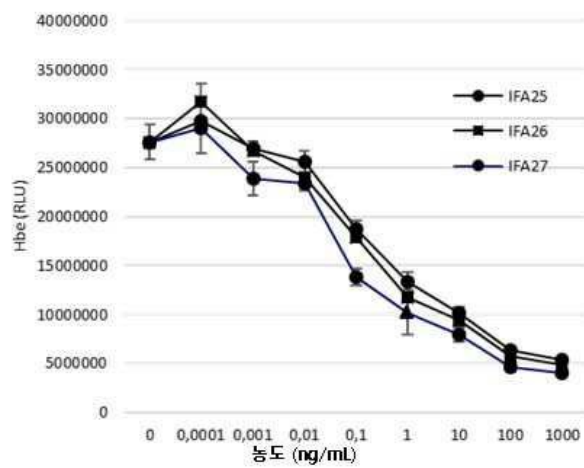
도면4d



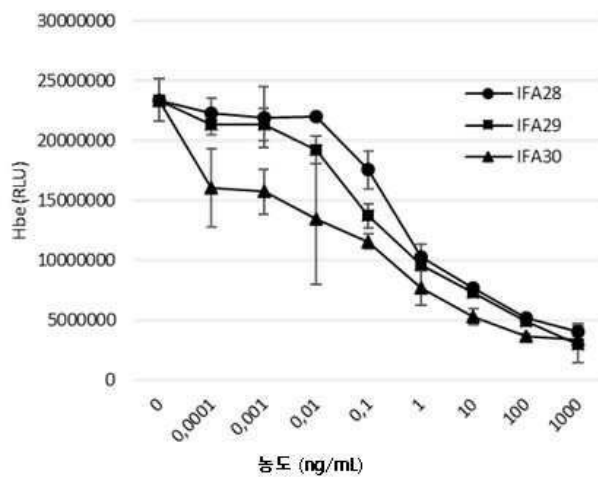
도면5



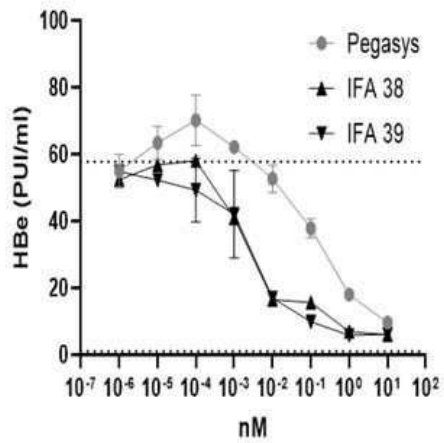
도면6a



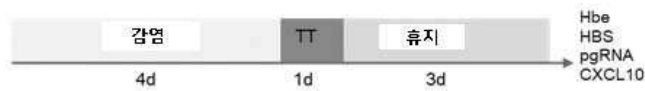
도면6b



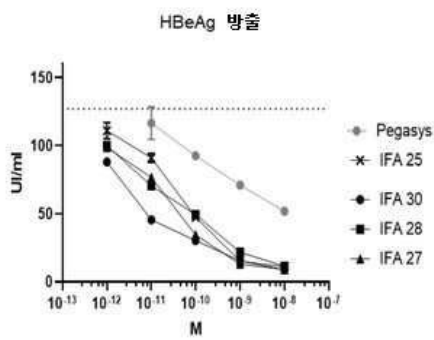
도면6c



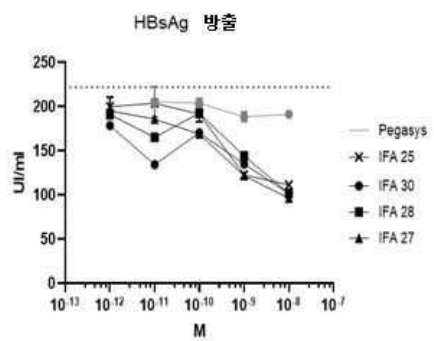
도면6d



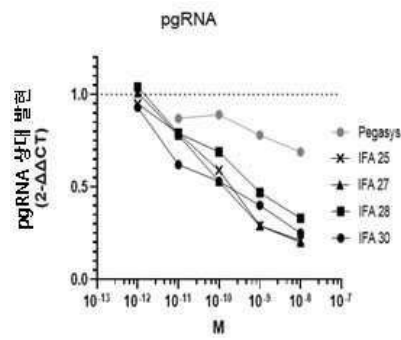
도면6e



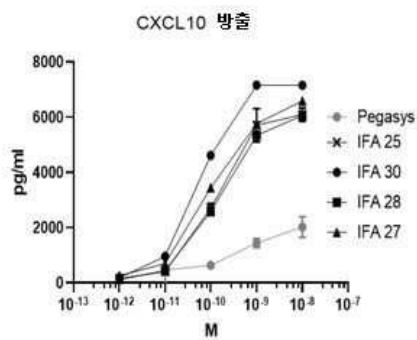
도면6f



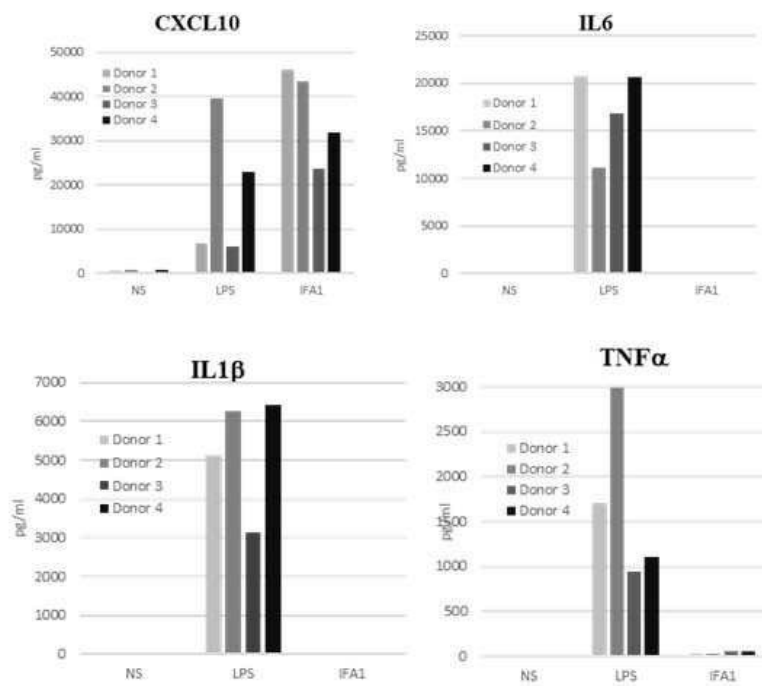
도면6g



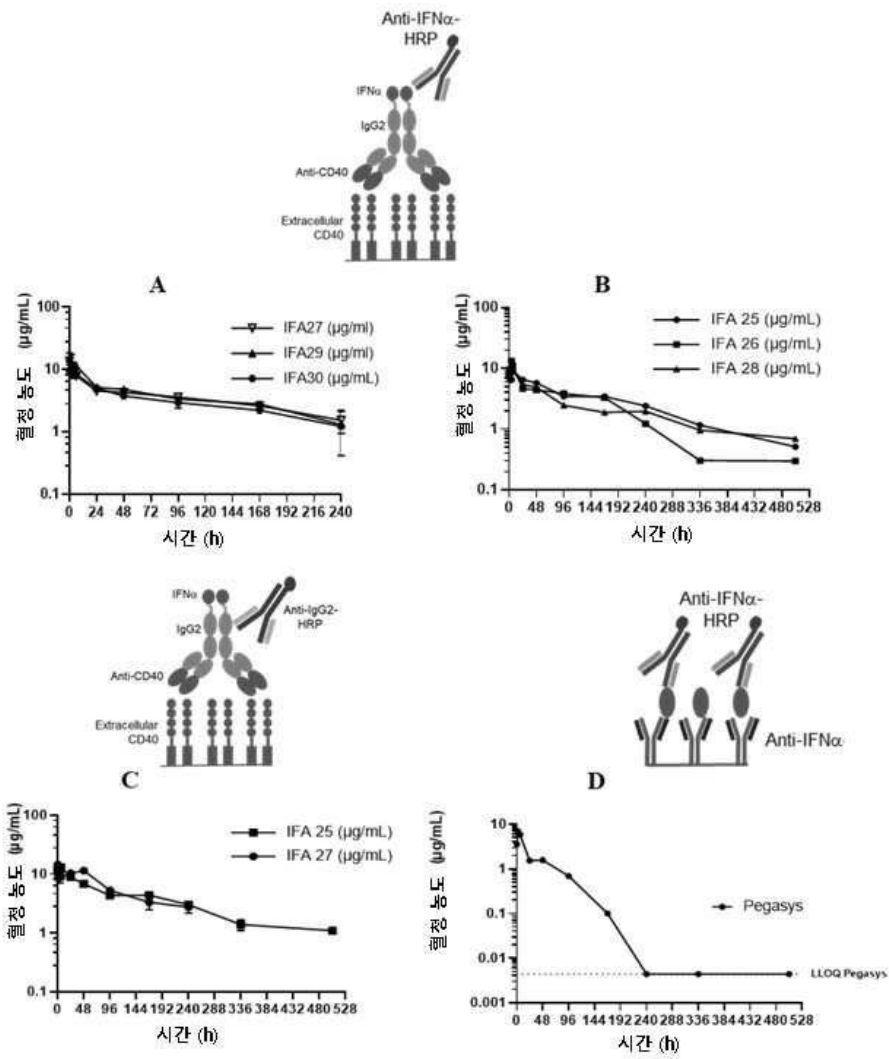
도면6h



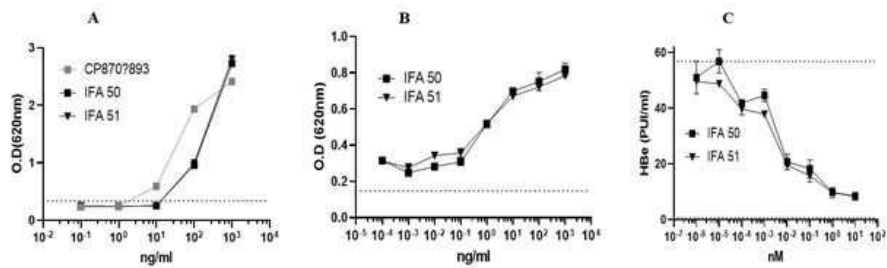
도면7



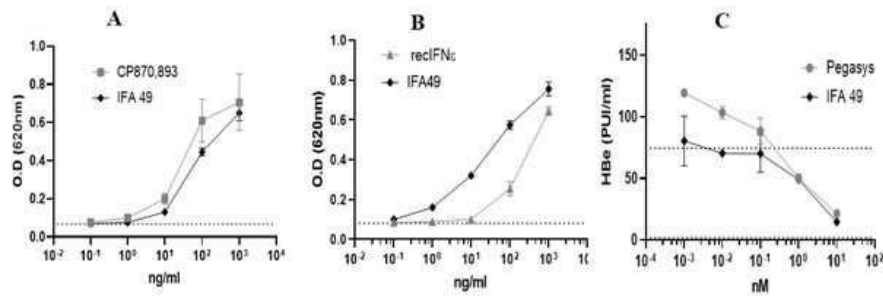
도면8



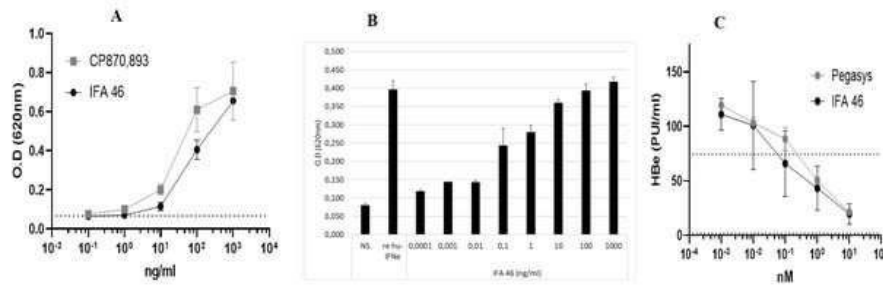
도면9



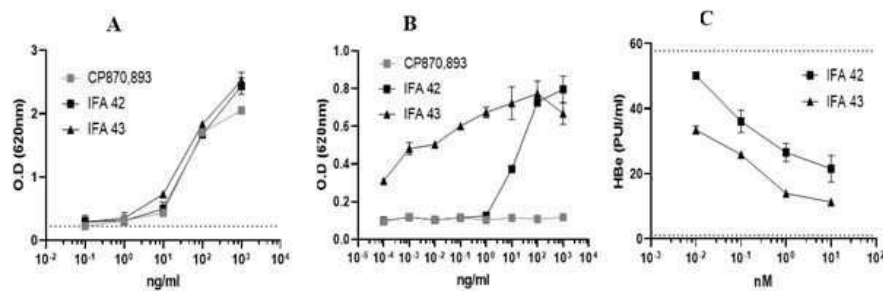
도면10



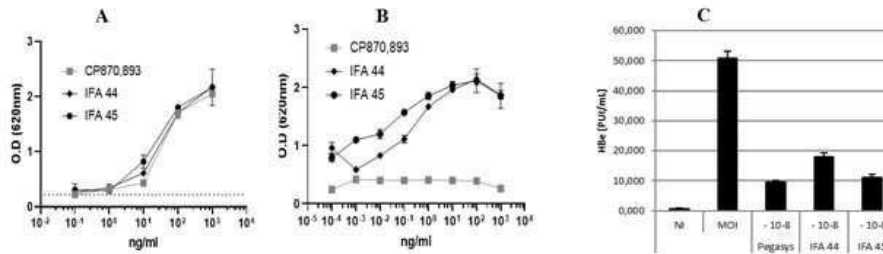
도면11



도면12



도면13



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Evotec International GmbH

SANOFI

<120> Interferon-associated antigen binding proteins and uses thereof.

<130> EV022745PCT-B

<150> EP19 306 573.7

<151> 2019-12-04

<150> EP19 306 552.1

<151> 2019-12-03

<160> 69

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal peptide 1

<400> 1

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Signal peptide 2

<400> 2

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys

20

<210> 3

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody light chain

<400> 3

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

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

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

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 4

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody light chain with signal peptide 1

<400> 4

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

195 200 205

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

210 215 220
 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

 <210> 5
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40 antibody light chain with signal peptide 2
 <400> 5
 Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
 1 5 10 15
 Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 20 25 30
 Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 35 40 45

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

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

165										170					175				
Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp				
180					185					190									
Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr				
195					200					205									
Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser				
210					215					220									
Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys								
225					230					235									
<210> 6																			
<211																			
> 451																			
<212> PRT																			
<213> Artificial Sequence																			
<220>																			
<223> antiCD40 antibody heavy chain hIgG2 dK																			
<400> 6																			
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala				
1				5				10				15							
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr				
20					25					30									
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				
35					40					45									
Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asp	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe				
50				55				60											
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65					70					75					80				
Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Ser	Tyr				
100					105					110									
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser				

115	120	125	
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr			
130	135	140	
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
145	150	155	160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val			
165	170	175	
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser			
180	185	190	
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr			
195	200	205	
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val			
210	215	220	
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val			
225	230	235	240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu			
245	250	255	
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
260	265	270	
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
275	280	285	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr			
290	295	300	
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn			
305	310	315	320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro			
325	330	335	
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
340	345	350	
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val			
355	360	365	

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

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

Ser Pro Gly

450

<210> 7

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody heavy chain hIgG2 dK with signal peptide 1

<400> 7

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30

Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45

Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
 65 70 75 80

Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95

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

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

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

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
225 230 235 240
Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala
245 250 255
Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
260 265 270
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
275 280 285

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
290 295 300
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
305 310 315 320
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
325 330 335
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
340 345 350

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

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

<210> 8

<211> 473

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody heavy chain hIgG2 dK with signal peptide 2

<400> 8

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

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

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

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

 245 250 255
 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 Gln 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 Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val

325 330 335

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

340 345 350

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly

355 360 365

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

370 375 380

Met 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 Met 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

<210> 9

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody heavy chain hIgG2

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35	40	45
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
		80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr		
100	105	110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
115	120	125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr		
130	135	140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
165	170	175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

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

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

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 10

<211> 471

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

antiCD40 antibody heavy chain hIgG2 with signal peptide 1

<400> 10

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

 245 250 255
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

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

 370 375 380
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

 435 440 445
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 11
 <211> 474
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40 antibody heavy chain hIgG2 with signal peptide 2

<400> 11

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
20 25 30

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
35 40 45

Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
50 55 60

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr
65 70 75 80

Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr
85 90 95

Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp
100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr
115 120 125

Asn Gly Val Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
130 135 140

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
145 150 155 160

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
165 170 175

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
180 185 190

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
195 200 205

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe
210 215 220

Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr
225 230 235 240

Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro

245 250 255

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 Gln 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 Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val

325 330 335

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

340 345 350

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly

355 360 365

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

370 375 380

Met 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 Met 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

465 470

<210> 12

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody hIgG2 Fab region heavy chain

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr

195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 225 230

<210> 13

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody hIgG2 Fab region heavy chain with signal
 peptide 1

<400> 13

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

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

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

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
165 170 175

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
180 185 190

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
195 200 205

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln
210 215 220

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
225 230 235 240

Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
245 250

<210> 14

<211> 166

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IFN1²

<400> 14

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln
1 5 10 15

Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu
20 25 30

Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln
35 40 45

Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln
50 55 60

Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn
65 70 75 80

Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn
85 90 95

His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr

100 105 110

Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg

115 120 125

Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr

130 135 140

Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu

145 150 155 160

Thr Gly Tyr Leu Arg Asn

165

<210> 15

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IFN1² C17S

<400> 15

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln

1 5 10 15

Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu

20 25 30

Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln

35 40 45

Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln

50 55 60

Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn

65 70 75 80

Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn

85 90 95

His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr

100 105 110

Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg

115 120 125

Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr

130 135 140

Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu

145 150 155 160

Thr Gly Tyr Leu Arg Asn

165

<210> 16

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IFN1² C17S,N80Q

<400> 16

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln

1 5 10 15

Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu

20 25 30

Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln

35 40 45

Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln

50 55 60

Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Gln

65 70 75 80

Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn

85 90 95

His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr

100 105 110

Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg

115 120 125

Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr

130 135 140

Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu

145 150 155 160

Thr Gly Tyr Leu Arg Asn

165

<210> 17

<211> 165

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IFN1 ± 2a

<400> 17

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145						150						155						160
Leu	Arg	Ser	Lys	Glu														
					165													
<210> 18																		
<211> 175																		
<212> PRT																		
<213> Homo sapiens																		
<220>																		
<223> IFNI»2																		
<400> 18																		
Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	His	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Cys			
1				5					10				15					
His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	Phe			
			20					25				30						
Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Cys			
			35					40				45						
Arg	Cys	His	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu			
		50				55				60								
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Met	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr			
65					70					75					80			
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Thr	Ala	Asp	Thr	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	Asp			
				85					90				95					
Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Phe			
				100					105				110					
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly			
				115					120				125					
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu			
			130					135				140						
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu			
145					150					155					160			
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val				

165

170

175

<210> 19

<211> 143

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> IFN γ ³

<400> 19

Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu Asn Leu Lys Lys Tyr Phe Asn

1 5 10 15

Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr Leu Phe Leu Gly Ile

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ile Gln Lys Ser Val Glu Thr Ile Lys Glu Asp Met Asn Val Lys

65 70 75 80

Phe Phe Asn Ser Asn Lys Lys Lys Arg Asp Asp Phe Glu Lys Leu Thr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Arg Lys Arg Ser Gln Met Leu Phe Arg Gly Arg Arg Ala Ser Gln

130 135 140

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> RL linker

<400> 20

Pro Ala Pro Ala

1

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> GST linker

<400> 21

Ser Gly Gly Thr Ser Gly Ser Thr Ser Gly Thr Gly Ser

1 5 10

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HL linker

<400> 22

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1 5 10

<210> 23

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> HL2 linker

<400> 23

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Glu Ala Ala

1 5 10 15

Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

20

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> G4S2 linker

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> G4S3 linker

<400> 25

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

1 5 10 15

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> G4S4 linker

<400> 26

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> TEV-6His tag

<400> 27

Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser His His His His His His

1 5 10

<210> 28

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--HL--IFN1²

<400> 28

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
210 215 220

Lys Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn
225 230 235 240

Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr
245 250 255

Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln
260 265 270

Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met
275 280 285

Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly
290 295 300

Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln
305 310 315 320

Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp
325 330 335

Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr
340 345 350

Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala
355 360 365

Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn
370 375 380

Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
385 390

<210> 29

<211> 392

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--HL--IFN1²_C17S

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala

210 215 220
 Lys Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn
 225 230 235 240
 Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr

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

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

 370 375 380
 Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 385 390
 <210> 30
 <211> 621
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFN γ ²
 <400> 30
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

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

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

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

260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
290	295	300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
420	425	430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
435	440	445
Ser Pro Gly Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu		
450	455	460
Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn		
465	470	475
Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro		
485	490	495
Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu		
500	505	510

Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp
515 520 525

Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala
530 535 540

Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys
545 550 555 560

Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His
565 570 575

Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu
580 585 590

Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn
595 600 605

Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
610 615 620

<210> 31

<211> 621

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFN1² _C17S

<400> 31

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

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

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

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

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

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

85 90 95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

115 120 125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr

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

145 150 155 160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr

195 200 205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val

210 215 220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

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

245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr

290 295 300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

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

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

Ser Pro Gly Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu
450 455 460

Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn
465 470 475 480

Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro
485 490 495

Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu
500 505 510

Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp
515 520 525

Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala
530 535 540

Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys
545 550 555 560

Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His
565 570 575

Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu

580 585 590
Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn
595 600 605
Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn

610 615 620

<210> 32

<211> 629

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFN γ ²

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

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

405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

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

Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met
450 455 460

Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys
465 470 475 480

Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys
485 490 495

Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln
500 505 510

Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn
515 520 525

Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu
530 535 540

Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His
545 550 555 560

Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg
565 570 575

Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile
580 585 590

Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile
595 600 605

Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr
610 615 620

Gly Tyr Leu Arg Asn

625

<210> 33

<211> 629

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFN1²_C17S

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr

195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val

210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240

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

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

 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430

 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met
 450 455 460

Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser
 465 470 475 480
 Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys
 485 490 495

Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln
 500 505 510
 Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn
 515 520 525
 Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu
 530 535 540
 Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His
 545 550 555 560

Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg
 565 570 575
 Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile
 580 585 590
 Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile
 595 600 605
 Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr
 610 615 620

Gly Tyr Leu Arg Asn

625

<210> 34

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC-- RL--IFN1²

<400> 34

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

20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

 Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe
 245 250 255
 Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp
 260 265 270

Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe
275 280 285

Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn
290 295 300

Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
305 310 315 320

Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
325 330 335

Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
340 345 350

Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
355 360 365

Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
370 375 380

<210> 35

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--RL--IFN γ _C17S

<400> 35

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

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

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

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala			
	100	105	110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			
	115	120	125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
	130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
145	150	155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
	165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
	180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
	195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu			
	210	215	220
Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp			
225	230	235	240
Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe			
	245	250	255
Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp			
	260	265	270
Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe			
	275	280	285
Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn			
	290	295	300
Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu			
305	310	315	320
Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser			
	325	330	335

Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
340 345 350

Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
355 360 365

Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
370 375 380

<210> 36

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--GST--IFN γ _C17S

<400> 36

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

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

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

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

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

 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Thr Ser Gly Ser Thr Ser Gly
 210 215 220
 Thr Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu
 245 250 255
 Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys
 260 265 270

 Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu
 275 280 285
 Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr
 290 295 300
 Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His
 305 310 315 320
 Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu
 325 330 335

 Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr
 340 345 350
 Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys
 355 360 365
 Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile
 370 375 380
 Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 385 390

<210> 37

<211> 404

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--HL2--IFN1²_C17S

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
210 215 220

Lys Ala Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met Ser
225 230 235 240

Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln
245 250 255

Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp
260 265 270

Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe
275 280 285

Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile
290 295 300

Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr
305 310 315 320

Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu
325 330 335

Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly
340 345 350

Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu
355 360 365

His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val
370 375 380

Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly
385 390 395 400

Tyr Leu Arg Asn

<210> 38

<211> 626

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--G4S2--IFN1 ± 2A

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr

195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val

210 215 220

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

 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu
 450 455 460
 Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala

465 470 475 480
 Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp
 485 490 495
 Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu
 500 505 510
 Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe
 515 520 525
 Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys

 530 535 540
 Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val
 545 550 555 560
 Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser
 565 570 575
 Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys
 580 585 590
 Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile

 595 600 605
 Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser
 610 615 620
 Lys Glu
 625
 <210> 39
 <211> 631
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--G4S3--IFN1 ± 2a
 <400> 39
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr

 20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr

 465 470 475 480
 Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 485 490 495
 Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 500 505 510
 Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 515 520 525

Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu

530 535 540

Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp

545 550 555 560

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu

565 570 575

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile

580 585 590

Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val

595 600 605

Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln

610 615 620

Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

625 630

<210> 40

<211> 636

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2_dK_HC--G4S4--IFN1±2a

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

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

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

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

325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460

 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu
 465 470 475 480
 Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser
 485 490 495
 Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu
 500 505 510
 Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His
 515 520 525

 Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser
 530 535 540
 Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr
 545 550 555 560
 Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val
 565 570 575

Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys
580 585 590

Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro
595 600 605

Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu
610 615 620

Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
625 630 635

<210> 41

<211> 389

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--G4S2--IFN1 ±2a

<400> 41

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

1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile

35 40 45
Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu

85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

210 215 220

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

225 230 235 240

Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

245 250 255

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

260 265 270

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

275 280 285

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

290 295 300

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

305 310 315 320

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys

325 330 335

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

340 345 350

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

355 360 365

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

370 375 380
 Leu Arg Ser Lys Glu
 385
 <210
 > 42
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40_LC--G4S3--IFN1±2a
 <400> 42
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser
 225 230 235 240

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

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

 Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr
 370 375 380
 Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 385 390
 <210> 43
 <211> 399

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--G4S4--IFN1±2A

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr

225 230 235 240

His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg

245 250 255

Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe

260 265 270

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

275 280 285

Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala

340 345 350

Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys

355 360 365

Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser

370 375 380

Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

385 390 395

<210> 44

<211> 395

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IFN1² --G4S3--antiCD40_LC

<400> 44

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln
1 5 10 15
Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu
20 25 30
Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln
35 40 45
Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln
50 55 60
Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn
65 70 75 80
Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn
85 90 95
His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr
100 105 110
Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg
115 120 125
Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr
130 135 140
Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu
145 150 155 160
Thr Gly Tyr Leu Arg Asn Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
165 170 175
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val
180 185 190
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
195 200 205
Gly Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
210 215 220
Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro
225 230 235 240
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

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

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

370 375 380
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

385 390 395

<210> 45

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--G4S4--IFN1²

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

290 295 300
 Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
 325 330 335
 Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
 340 345 350

 Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
 355 360 365
 Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
 370 375 380
 Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 385 390 395 400
 <210> 46
 <211> 636
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IFN1² --G4S3--antiCD40_HC_IgG1_NNAS_dK

 <400> 46
 Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln
 1 5 10 15
 Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu
 20 25 30
 Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln
 35 40 45
 Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln
 50 55 60

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

His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr
100 105 110

Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg
115 120 125

Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr
130 135 140

Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu
145 150 155 160

Thr Gly Tyr Leu Arg Asn Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
165 170 175

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val
180 185 190

Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr
195 200 205

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln
210 215 220

Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn
225 230 235 240

Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser
245 250 255

Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr
260 265 270

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

Gly Val Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
290 295 300

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
305 310 315 320

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
325 330 335

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala

340 345 350
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 355 360 365
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 370 375 380

 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 385 390 395 400
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 405 410 415
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 420 425 430
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 435 440 445

 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 450 455 460
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 465 470 475 480
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu
 485 490 495
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 500 505 510

 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 515 520 525
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 530 535 540
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 545 550 555 560
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 565 570 575

 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 580 585 590

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
595 600 605

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
610 615 620

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
625 630 635

<210> 47

<211

> 641

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_HC_IgG1_NNAS_dK--G4S4--IFN1²

<400> 47

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
130 135 140

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

145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175

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

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

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

 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430

 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 450 455 460
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu
 465 470 475 480
 Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu
 485 490 495

 Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn
 500 505 510
 Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu
 515 520 525
 Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile
 530 535 540
 Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu
 545 550 555 560

 Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val
 565 570 575
 Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met
 580 585 590
 Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu
 595 600 605
 Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu
 610 615 620

 Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg
 625 630 635 640
 Asn

<210> 48

<211> 456

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody hIgG1 heavy chain -NNAS

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 49
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40 antibody hIgG1 heavy chain -NNAS-dK
 <400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

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

 130 135 140
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
195 200 205
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
210 215 220
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300
Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
355 360 365
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 450 455

<210> 50

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 antibody hIgG2 Fab region heavy chain--TEV--6His tag

<400> 50

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

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

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

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
210 215 220

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser His His
225 230 235 240

His His His His

<210> 51

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody VL domain

<400> 51

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

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

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

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRL1

<400> 52

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRL2

<400> 53

Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRL3

<400> 54

Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 55

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody VH domain

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRH1

<400> 56

Thr Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRH2

<400> 57

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

1 5 10 15

Gly

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40 Antibody CDRH3

<400> 58

Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 59

<211> 1947

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Nucleic acid encoding SEQ ID NO 32

<400> 59

atgggctggt cctgcatcat tctgtttctg gtggccacag ccacaggcgt gcactctcag 60

gttcaactgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc 120

tgtaaagcca gcggctacac ctttaccggc tactacatgc actgggtccg acaggtcca 180

ggacagggac ttgagtggat gggctggatc aatcctgaca gcggcggcac caactacgcc 240

cagaaattcc agggcagagt gaccatgacc agagacacca gcatcagcac cgcctacatg 300

gaactgaacc ggctgagatc cgacgacacc gccgtgtact attgcgccag agatcagcct 360

ctgggctact gcacaaatgg cgtgtgcagc tacttcgact actggggcca gggcacactg 420

gttacagtgt ctacgcctc tacaaagggc cctccgttt ttcctctggc tccttgttct 480

agaagcacca gcgagtctac agccgctctg ggctgtctgg tcaaggacta ctttctgag 540

cctgtgaccg tgccttgaa tagcggagca ctgacatccg gcgtgcacac atttcagct 600
 gtgctgcaga gcagcggcct gtactctctg tctagcgtgg tcaccgtgcc tagcagcaat 660
 ttcggcacc agacctacac ctgtaacgtg gaccacaagc ctagcaacac caaggtggac 720
 aagaccgtgg aacggaagtg ctgcgtggaa tgcctcctt gtctgtctcc tccagtggcc 780
 ggaccttccg tgittctgtt ccctccaaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 840
 cctgaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg tctcacgagg atcccaggt gcagttcaat 900
 tggtagctgg acggcgtgga agtgcacaac gccaagacca agcctagaga ggaacagttc 960

aacagcacct tcagagtgtg gtccgtgctg accgtggtgc atcaggactg gctgaacggc 1020
 aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggcctgcctg ctctatcga gaaaaccatc 1080
 agcaagacca aaggccagcc tcgcgagcct caggtttaca cactgcctcc aagccgggaa 1140
 gagatgacca agaatacagt gtccctgacc tgcctcgtga agggcttcta cccttccgat 1200
 atcgccgtgg aatgggagag caatggccag cctgagaaca actacaagac cacacctcct 1260
 atgctggaca gcgacggctc attcttctg tacagcaagc tgacagtgga caagtccaga 1320
 tggcagcagg gcaactgtt cagctgttct gtgatgcacg aggcctgca caaccactac 1380

accagaagt ctctgtctct gagccctggc gctgaagccg ctgctaaaga agctgccgcc 1440
 aaggccatga gctacaacct gctgggcttt ctgcagcgga gcagcaactt ccagtgccag 1500
 aaactgctgt ggagctgaa tggccggctg gaatactgcc tgaaggaccg gatgaacttc 1560
 gacatccccg aggaaatcaa gcagctgcag cagttccaga aagaggacgc cgctctgacc 1620
 atctacgaga tgctgcagaa catcttcgcc atcttccggc aggatagcag cagcaccgga 1680
 tggaacgaga caatcgtgga aaatctgctg gccaacgtgt accaccagat caaccacctg 1740
 aaaaccgtgc tggaagagaa gctggaaaaa gaggacttca cccggggcaa gctgatgagc 1800

agcctgcacc tgaagcggta ctacggcaga atcctgcact acctcaaggc caaagagtat 1860
 agccactgcg cctggaccat cgtgcgctg gaaatcctgc ggaacttcta cttcatcaac 1920
 agactgaccg gctacctgcg caactga 1947

<210> 60

<211> 174

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> IFN ω

<400> 60

Leu Gly Cys Asp Leu Pro Gln Asn His Gly Leu Leu Ser Arg Asn Thr

1 5 10 15
 Leu Val Leu Leu His Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Leu Cys Leu

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

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

 145 150 155 160
 Gln Glu Arg Leu Arg Ser Lys Asp Arg Asp Leu Gly Ser Ser
 165 170

 <210> 61
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> IFN ϵ
 <400> 61
 Leu Asp Leu Lys Leu Ile Ile Phe Gln Gln Arg Gln Val Asn Gln Glu
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Leu Asn Lys Leu Gln Thr Leu Ser Ile Gln Gln Cys

[illegible]

20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Cys

450 455 460

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

465 470 475 480

Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg

485 490 495

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

500 505 510

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

515 520 525
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

530 535 540
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
545 550 555 560
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
565 570 575
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
580 585 590
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala

595 600 605
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
610 615 620
Arg Ser Lys Glu

625

<210> 63

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC-derivative--HL--IFN α 2A

<400> 63

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

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

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala Glu Ala

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys

245 250 255

Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro

260 265 270

Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val

275 280 285

Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335
Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val

340 345 350
Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr

355 360 365
Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe

370 375 380
Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

385 390 395

<210> 64

<211> 377

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_LC--(G4S)4--IFN γ

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

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

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

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

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

370

375

<210> 65

<211> 614

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN γ

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser

180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
		240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
290	295	300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
420	425	430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu
465 470 475 480
Asn Leu Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn
485 490 495

Gly Thr Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn Trp Lys Glu Glu Ser Asp
500 505 510
Arg Lys Ile Met Gln Ser Gln Ile Val Ser Phe Tyr Phe Lys Leu Phe
515 520 525
Lys Asn Phe Lys Asp Asp Gln Ser Ile Gln Lys Ser Val Glu Thr Ile
530 535 540
Lys Glu Asp Met Asn Val Lys Phe Phe Asn Ser Asn Lys Lys Lys Arg
545 550 555 560

Asp Asp Phe Glu Lys Leu Thr Asn Tyr Ser Val Thr Asp Leu Asn Val
565 570 575
Gln Arg Lys Ala Ile His Glu Leu Ile Gln Val Met Ala Glu Leu Ser
580 585 590
Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser Gln Met Leu Phe Arg
595 600 605
Gly Arg Arg Ala Ser Gln
610
<210> 66
<211> 409
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> antiCD40_LC--(G4S)4--IFNλ2
<400> 66
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

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

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

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

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

 245 250 255

Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala
 260 265 270
 Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu
 275 280 285
 Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro
 290 295 300
 Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala

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

370 375 380
 Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn
 385 390 395 400
 Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val

405

<210> 67

<211> 646

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> antiCD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFNλ2

<400> 67

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

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

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

35	40	45
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
		80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr		
100	105	110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
115	120	125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr		
130	135	140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
160		
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
165	170	175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
240		
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

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

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

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala
465 470 475 480

Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser
485 490 495

Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu
500 505 510

Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg
515 520 525

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

530 535 540
 Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp
 545 550 555 560
 Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu
 565 570 575
 His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr
 580 585 590

 Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu
 595 600 605
 Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val
 610 615 620
 Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala
 625 630 635 640
 Ser Gly Asp Leu Cys Val
 645

 <210> 68
 <211> 408
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> antiCD40_LC--(G4S)4--IFN ω
 <400> 68
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

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

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

 305 310 315 320
 Leu His Thr Gly Leu His Gln Gln Leu Gln His Leu Glu Thr Cys Leu

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

 370 375 380
 Met Lys Ser Leu Phe Leu Ser Thr Asn Met Gln Glu Arg Leu Arg Ser
 385 390 395 400
 Lys Asp Arg Asp Leu Gly Ser Ser
 405
 <210> 69
 <211> 658
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> antiCD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN ε
 <400> 69
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

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

 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140

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

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

 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335

 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400

 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460

 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Asp Leu Lys Leu Ile Ile Phe Gln
 465 470 475 480
 Gln Arg Gln Val Asn Gln Glu Ser Leu Lys Leu Leu Asn Lys Leu Gln
 485 490 495
 Thr Leu Ser Ile Gln Gln Cys Leu Pro His Arg Lys Asn Phe Leu Leu
 500 505 510
 Pro Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gln Gln Tyr Gln Lys Gly His Thr Leu
 515 520 525

 Ala Ile Leu His Glu Met Leu Gln Gln Ile Phe Ser Leu Phe Arg Ala
 530 535 540
 Asn Ile Ser Leu Asp Gly Trp Glu Glu Asn His Thr Glu Lys Phe Leu
 545 550 555 560
 Ile Gln Leu His Gln Gln Leu Glu Tyr Leu Glu Ala Leu Met Gly Leu
 565 570 575
 Glu Ala Glu Lys Leu Ser Gly Thr Leu Gly Ser Asp Asn Leu Arg Leu
 580 585 590

 Gln Val Lys Met Tyr Phe Arg Arg Ile His Asp Tyr Leu Glu Asn Gln
 595 600 605

Asp Tyr Ser Thr Cys Ala Trp Ala Ile Val Gln Val Glu Ile Ser Arg
 610 615 620
 Cys Leu Phe Phe Val Phe Ser Leu Thr Glu Lys Leu Ser Lys Gln Gly
 625 630 635 640
 Arg Pro Leu Asn Asp Met Lys Gln Glu Leu Thr Thr Glu Phe Arg Ser
 645 650 655

 Pro Arg