



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0144821
(43) 공개일자 2022년10월27일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7031081
- (22) 출원일자(국제) 2021년02월16일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2022년09월07일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2021/018177
- (87) 국제공개번호 WO 2021/167885
국제공개일자 2021년08월26일
- (30) 우선권주장
62/980,000 2020년02월21일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
마크로제닉스, 인크.
미국 메릴랜드주 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브 9704
- (72) 발명자
베레즈노이 알렉세이 예브게니예비치
미국 메릴랜드 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브 9704
디드리히 군도
미국 메릴랜드 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브 9704
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인와이에스장

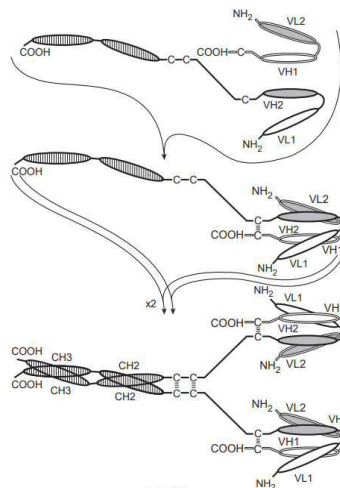
전체 청구항 수 : 총 44 항

(54) 발명의 명칭 CD137 결합 분자 및 그것의 용도

(57) 요약

본 발명은 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자를 포함하여, CD137의 에피토프에 특이적인 하나 이상의 에피토프 결합 부위를 가지는 결합 분자에 관한 것이다. 발명은 추가로 CD137의 에피토프에 특이적인 하나 이상의 에피토프 결합 부위 및 종양 항원의 에피토프 ("TA")에 특이적인 하나 이상의 에피토프 결합 부위를 포함하는 다중특이적 결합 분자 (예컨대, "CD137 x TA 결합 분자")에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

(72) 발명자

무어 폴 에이.

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브
9704

본비니 에지오

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브
9704

샤아 칼파나

미국 메릴랜드 20850 록빌 메디칼 센터 드라이브
9704

(30) 우선권주장

63/104,685 2020년10월23일 미국(US)

63/147,565 2021년02월09일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

CD137의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 제1 결합 부위를 포함하는 **CD137 결합 분자**로서, 상기 제1 결합 부위는 CDR_L1, CDR_L2 및 CDR_L3을 포함하는 제1 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_H1, CDR_H2 및 CDR_H3을 포함하는 제1 중쇄 가변 도메인을 포함하고;

(A) 상기 제1 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**의 경쇄 CDR이며;

(B) 상기 제1 중쇄 가변 도메인 CDR_H1, CDR_H2, 및 CDR_H3은 **CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 중쇄 CDR인, **CD137 결합 분자**.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 **CD137 결합 분자**.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 제1 경쇄 가변 도메인은:

(A) **hCD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:54)**;

(B) **hCD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**;

(B) **hCD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)**; 또는

(C) **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 **CD137 결합 분자**.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

(A) 상기 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하고;

(B) 상기 제1 경쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 **CD137 결합 분자**.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분자는 종양 항원 (**TA**)에 면역특이적으로 결합하는 제2 결합 부위를 포함하는 이중특이적 분자이며, 상기 제2 결합 부위는 CDR_L1, CDR_L2 및 CDR_L3을 포함하는 제2 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_H1, CDR_H2 및 CDR_H3을 포함하는 제2 중쇄 가변 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는 **CD137 결합 분자**.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 **TA**는 표 1-2에 제공된 항원으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 **CD137 결합 분자**.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 **TA**는 PD-L1이고:

(A) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 경쇄 CDR이며;

(B) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_H1, CDR_H2, 및 CDR_H3은 **hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:59)**의 중쇄 CDR인 것을

특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 8

제7항에 있어서,

(A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58)의 경쇄 CDR이거나; 또는

(2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 경쇄 CDR이며;

(B) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57)의 중쇄 CDR이거나;

(2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)의 중쇄 CDR이거나;

(3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)의 중쇄 CDR이거나;

(4) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:69)의 중쇄 CDR이거나;

(5) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:70)의 중쇄 CDR이거나; 또는

(6) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:71)의 중쇄 CDR인 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 9

제8항에 있어서, 상기 제2 중쇄 가변 도메인은:

(A) hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57);

(B) hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67);

(C) hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68);

(D) hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69);

(E) hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70); 또는

(F) hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 제2 경쇄 가변 도메인은:

(A) hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58); 또는

(B) hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 11

제5항에 있어서, TA는 5T4이고:

(A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)의 경쇄 CDR이며;

(2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)의 중쇄 CDR이거나; 또는

(B) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 5T4 MAB-2 VL (서열 번호:95)의 경쇄 CDR이고;

(2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 5T4 MAB-2 VH (서열 번호:96)의 중쇄 CDR인 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 12

제11항에 있어서, 제2 중쇄 가변 도메인은 5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 13

제11항 또는 제12항에 있어서, 제2 경쇄 가변 도메인은 5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 14

제5항에 있어서, TA는 HER2이고:

(A) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL_x (서열 번호:79)의 경쇄 CDR이며;

(B) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH_x (서열 번호:78)의 중쇄 CDR인 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 15

제14항에 있어서,

(A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL1 (서열 번호:83)의 경쇄 CDR이거나;

(2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL2 (서열 번호:84)의 경쇄 CDR이거나; 또는

(3) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)의 경쇄 CDR이며;

(B) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80)의 중쇄 CDR이거나;

(2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH2 (서열 번호:81)의 중쇄 CDR이거나; 또는

(3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH3 (서열 번호:82)의 중쇄 CDR인 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 제2 중쇄 가변 도메인은:

(A) hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80);

(B) hHER2-MAB-1 VH2 (서열 번호:81); 또는

(C) hHER2-MAB-1 VH3 (서열 번호:82)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서, 상기 제2 경쇄 가변 도메인은:

- (A) hHER2-MAB-1 VL1 (서열 번호:83);
- (B) hHER2-MAB-1 VL2 (서열 번호:84); 또는
- (C) hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 또는 이중특이적 4가 Fc 함유 디아바디, 또는 이중특이적 3가 분자인 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 19

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분자는 이중특이적이고 4가이며, 제1, 제2, 제3, 및 제4 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분자는 이중특이적이고 3가이며, 제1, 제2, 제3, 및 제4 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 21

제19항에 있어서, 상기 TA는 PD-L1이고:

- (A) 상기 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:116, 서열 번호:118, 또는 서열 번호:120의 아미노산 서열을 포함하며;
- (B) 상기 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:117, 서열 번호:119, 서열 번호:121, 서열 번호:122, 서열 번호:123, 서열 번호:124, 서열 번호:125, 서열 번호:126, 또는 서열 번호:139의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 22

제21항에 있어서, 상기 분자는:

- (A) 서열 번호:116 및 서열 번호:117;
- (B) 서열 번호:118 및 서열 번호:119;
- (C) 서열 번호:120 및 서열 번호:119;
- (D) 서열 번호:118 및 서열 번호:121;
- (E) 서열 번호:120 및 서열 번호:121;
- (F) 서열 번호:120 및 서열 번호:122;
- (G) 서열 번호:120 및 서열 번호:123;
- (H) 서열 번호:120 및 서열 번호:124;
- (I) 서열 번호:120 및 서열 번호:125;
- (J) 서열 번호:120 및 서열 번호:126; 또는
- (K) 서열 번호:120 및 서열 번호:139를 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 23

제20항에 있어서, 상기 TA는 PD-L1이며:

- (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:127, 서열 번호:133, 또는 서열 번호:135의 아미노산 서열을 포함

하고;

(B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:128, 서열 번호:134, 또는 서열 번호:136의 아미노산 서열을 포함하며;

(C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:129, 또는 서열 번호:131의 아미노산 서열을 포함하고;

(D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:130, 서열 번호:132의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 분자는:

(A) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:129, 및 서열 번호:130;

(B) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132;

(C) 서열 번호:133, 서열 번호:134, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132; 또는

(D) 서열 번호:135, 서열 번호:136, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132를 포함하는 것을 특징으로 하는 CD137 결합 분자.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 CD137 결합 분자, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 26

상기 TA와 관련된 또는 상기 TA의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의, 제6항 내지 제24항 중 어느 한 항의 CD137 결합 분자, 또는 제25항의 제약학적 조성물의 용도.

청구항 27

CDR_{L1}, CDR_{L2} 및 CDR_{L3}을 포함하는 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_{H1}, CDR_{H2} 및 CDR_{H3}을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 PD-L1 결합 분자로서,

(A) 상기 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 경쇄 CDR이며;

(B) (1) 상기 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)의 중쇄 CDR이거나;

(2) 상기 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)의 중쇄 CDR이거나;

(3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)의 중쇄 CDR이거나;

(4) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70)의 중쇄 CDR이거나; 또는

(5) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 중쇄 CDR인, PD-L1 결합 분자.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 중쇄 가변 도메인은:

(A) hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67);

(B) hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68);

(C) hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69);

(D) hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70); 또는

(E) hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 PD-L1 결합 분자.

청구항 29

제27항 또는 제28항에 있어서, 상기 경쇄 가변 도메인은 hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 PD-L1 결합 분자.

청구항 30

제27항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 분자는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편인 것을 특징으로 하는 PD-L1 결합 분자.

청구항 31

제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 PD-L1 결합 분자, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.

청구항 32

억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의, 제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 PD-L1 결합 분자, 또는 제31항의 제약학적 조성물의 용도.

청구항 33

제32항에 있어서, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 상기 질환 또는 상태는 암인 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 34

제26항, 또는 제33항에 있어서, 상기 암은 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교묘세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 용도.

청구항 35

종양 표적화제의 활성을 향상시키는 방법으로서, 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 CD137 결합 분자, 제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 PD-L1 결합 분자, 또는 제25항 또는 제31항의 제약학적 조성물과 조합하여 상기 종양 표적화제를 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 36

억제된 면역 체계와 관련된 또는 TA의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태를 치료하는 방법으로서, 제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 CD137 결합 분자, 제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 PD-L1 결합 분자, 또는 제25항 또는 제31항의 제약학적 조성물을 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 TA의 발현을 특징으로 하는 상태는 암인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, 종양 표적화제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 39

제35항 또는 제38항에 있어서, 상기 종양 표적화제는 항체, 항체의 에피토프 결합 단편, 또는 표적 세포의 T 세

포 재지시된 사멸을 매개하는 작용제인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 40

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 암은 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 41

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항의 **CD137 결합 분자**, 또는 제27항 내지 제30항 중 어느 한 항의 **PD-L1 결합 분자**를 암호화하는 핵산.

청구항 42

제41항에 따르는 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 43

제41항에 따르는 핵산 또는 제42항에 따르는 발현 벡터를 포함하는 세포.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 세포는 포유류 세포인 것을 특징으로 하는 세포.

발명의 설명

기술 분야

[0001] **관련 출원에 대한 상호 참조**

[0002] 본 출원은 미국 특허 출원 번호 62/980,000 (2020년 2월 21일에 출원됨; 계류중), 63/104,685 (2020년 10월 23일에 출원됨; 계류중), 및 63/147,565 (2021년 2월 9일에 출원됨)의 이익을 주장하며, 각각의 출원은 모든 목적에 대해 그 전문이 참조로 본원에 포함된다.

[0003] **서열 목록에 대한 언급**

[0004] 본 출원은 ASCII 포맷으로 전자적으로 제출되었고 그 전문이 참조로 본원에 포함된 서열 목록을 포함한다. 2021년 2월 12일에 생성된 상기 ASCII 사본은 MAC-0111-PC_SL.txt로 명명되고 크기가 224,061 바이트이며, 그 파일은 전문이 참조로 본원에 포함된다.

[0005] **기술분야**

[0006] 본 기술은 CD137의 에피토프에 결합할 수 있는 **CD137 결합 분자**, 예컨대 단일특이적 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자에 관한 것이다. 본 기술은 추가로 CD137의 에피토프 및 제2 항원, 특히 종양 항원 ("TA")의 에피토프에 모두 결합할 수 있는 다중특이적 **CD137 결합 분자** (예컨대, 이중특이적 항체, 이중특이적 디아바디, BiTE, 3가 결합 분자, 등) (예컨대, "**CD137 x TA 결합 분자**")에 관한 것이다. 본 기술은 또한 신규한 **PD-L1 결합 분자**, 예컨대 단일특이적 항체, 및 PD-L1의 에피토프에 결합할 수 있는 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자, 뿐만 아니라 그것들의 유도체 및 그것들의 용도를 제공한다. 본 기술은 또한 그러한 분자를 포함하는 제약학적 조성물에 관한 것이다. 본 기술은 또한 질환, 특히 암 또는 억제된 면역 체계의 존재와 관련되거나 그것을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에 그러한 분자의 사용을 포함한다.

배경 기술

[0007] CD137 (또한 4-1BB 및 "TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9" ("TNFRSF9"))로도 알려져 있음)은 CD28 의존적 및 독립적인 T 세포 공동자극을 매개하는, 종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리의 공동자극 수용체 구성원이다 (Vinay, D.S. and Kwon, B.S. (1998) "*Role of 4-1BB in immune responses*", *Semin Immunol.* 10:481-489; Croft, M. (2009) "*The Role Of TNF Superfamily Members In T-Cell Function And Diseases*", *Nat. Rev. Immunol.*

9:271-285). CD137은 T 세포, 자연 살해 (NK) 세포, 수지상 세포 (DC), B 세포, 및 기타 면역 체계의 세포에 의해 유도적으로 발현된다. CD137의 그것의 리간드 CD137L (4-1BBL; TNFSF9), 또는 작용물질 항체에 의한 결합은 세포 팽창, 증가된 사이토카인 분비 및 활성화 유도된 세포 사멸의 방지와 같은 다양한 T 세포 반응을 불러 일으킨다. 그러므로, CD137을 자극하는 항체는 T 세포의 생존 및 증식을 유도할 수 있고, 그로써 항-종양 면역 반응을 증강시킬 수 있다. 그러한 인식은 CD137에 대해 면역특이적인 항체가 면역 체계를 활성화하기 위해 사용될 수 있고 그로써 암 치료법을 제공할 수 있을 것이라는 제안으로 이어졌다 (Li, S.Y. *et al.* (2013) "Immunotherapy Of Melanoma With The Immunecostimulatory Monoclonal Antibodies Targeting CD137", Clin. Pharmacol. 5:47-53; Bartkowiak, T. *et al.* (2015) "4-1BB Agonists: Multi-Potent Potentiators Of Tumor Immunity", Frontiers Oncol. 5:117). 항-CD137 항체 유토밀루맷(utomilumab) 및 우렐루맷(urelumab)이 기술되었지만 그것들의 임상 개발은 낮은 효능 (유토밀루맷) 또는 중증의 간 독성 (우렐루맷)에 의해 방해받았다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 암세포를 공격하는 한편 교차 결합의 부재 시에 높은 활성을 나타내는 항체와 관련된 독성을 피하도록 신체의 면역 체계를 보다 격렬하게 자극하고 지지할 수 있는 개선된 조성물이 제공된다. 비록 적응성 면역 체계가 암 및 질환에 대한 강력한 방어 메커니즘일 수 있긴 하지만, 그것은 종종 종양 미세환경에서, CD137의 감소된/부재하는 공동 자극 활성화에 의해 매개된 면역 억제/회피 메커니즘에 의해 방해받는다. 나아가, 종양 환경에서 종양 세포, 면역 세포, 및 기질 세포에 의해 발현된 공동 자극 분자는 암세포에 대한 T 세포 반응을 우세하게 약화시킬 수 있다.

[0009] CD137의 에피토프 및 종양 항원의 에피토프에 모두 결합할 수 있는 CD137 결합 분자, 특히 CD137 x TA 결합 분자가 제공된다. 그러한 이중특이적 분자는 종양 세포의 표면 상에 발현되는 종양 항원에 결합할 수 있고, CD137 발현 면역 세포를 그러한 종양 세포에 공동으로 국지화할 수 있다. 그러한 공동 국지화는 면역 세포가 면역 체계의 활성화 또는 지속적인 활성화를 촉진하도록 상향조절한다 (예컨대, 종양 세포에 대해 세포독성 T 세포 반응을 자극함). 이들 속성은 그러한 이중특이적 분자가 면역 체계를 자극하는데, 특히 암 치료에서 유용성을 갖도록 허용한다. 본 기술은 이들 및 다른 목표에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 그러므로, 특정 측면으로 CD137의 에피토프에 결합할 수 있는 **CD137 결합 분자**, 예컨대 단일특이적 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자가 제공된다. 발명은 추가로 및 제2 항원, 특히 종양 항원 ("**TA**")의 에피토프에 모두 결합할 수 있는 다중특이적 **CD137 결합 분자** (예컨대, 이중특이적 항체, 이중특이적 디아바디, BiTE, 3가 결합 분자, 등) (예컨대, "**CD137 x TA 결합 분자**")에 관한 것이다. 발명은 또한 신규한 **PD-L1 결합 분자**, 예컨대 단일특이적 항체, 및 PD-L1의 에피토프에 결합할 수 있는 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자, 뿐만 아니라 그것들의 유도체 및 그것들의 용도를 제공한다. 본 발명은 또한 그러한 분자를 포함하는 제약학적 조성물에 관한 것이다. 발명은 또한 질환, 특히 암 또는 억제된 면역 체계의 존재와 관련되거나 그것을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에 그러한 분자의 사용을 포함한다.

[0011] 본 발명은 특히 다중특이적 분자에 통합될 때 바람직한 특징을 나타내는 신규한 **CD137 결합 분자**를 제공한다. 본 발명은 또한 서로 회합하여 각각이 CD137의 에피토프에 대해 특이적인 2개의 결합 부위 및 각각이 **TA**의 에피토프에 대해 특이적인 2개의 결합 부위를 형성하는 폴리펩타이드 사슬로 구성되는 다중특이적 **CD137 x TA** 결합 분자에 관한 것이다. 발명의 그러한 **CD137 x TA** 결합 분자는 "**이중특이적 4가**"로 명명된다. 본 발명은 또한 서로 회합하여 각각이 CD137의 에피토프에 대해 특이적인 2개의 결합 부위 및 **TA**의 에피토프에 대해 특이적인 하나의 결합 부위를 형성하는 폴리펩타이드 사슬로 구성되는 다중특이적 **CD137 x TA** 결합 분자에 관한 것이다. 발명의 그러한 **CD137 x TA** 결합 분자는 "**이중특이적 3가**"로 명명된다. 발명의 결합 분자 (예컨대, **CD137 결합 분자**)는 때로 제1 결합 부위가 결합하는 항원과 상이한 항원에 면역특이적으로 결합하는 제2 결합 부위를 포함하지 않으면서 제1 결합 부위를 포함한다. 그러므로 발명의 결합 분자는 때로 제1 결합 부위, 및 제1 경쇄 가변 도메인 및 제1 중쇄 가변 도메인만을 포함하며, 제1 결합 부위와는 상이한 항원에 결합하는 제2 결합 부위, 제2 경쇄 가변 도메인 또는 제2 중쇄 가변 도메인을 포함하지 않으며, 그러한 결합 분자의 비제한적인 예로는 scFv, 항체 및 Fab 결합 분자를 들 수 있다.

[0012] 본 발명은 4개의 폴리펩타이드 사슬 ("**제1**", "**제2**", "**제3**", 및 "**제4**" 폴리펩타이드 사슬)을 포함하는 **CD137 x**

TA 결합 분자를 제공하며, 여기서 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합되고, 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합되며, 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합된다. 또한 5개의 폴리펩타이드 사슬 ("제1", "제2", "제3", "제4", 및 "제5" 폴리펩타이드 사슬)을 포함하는 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자가 제공되며, 여기서 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합되고, 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합되며, 제3 및 제5 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합되고, 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 서로에게 공유 결합된다.

- [0013] 상세하게 설명하면, 발명은 CD137의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 제1 결합 부위를 포함하는데, 제1 결합 부위는 CDR_{L1}, CDR_{L2} 및 CDR_{L3}을 포함하는 제1 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_{H1}, CDR_{H2} 및 CDR_{H3}을 포함하는 제1 중쇄 가변 도메인을 포함하고;
- [0014] (A) 제1 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**의 경쇄 CDR이며;
- [0015] (B) 제1 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 중쇄 CDR이다.
- [0016] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0017] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 제1 경쇄 가변 도메인은:
- [0018] (A) **hCD137 MAB-6 VLx (서열 번호:54)**;
- [0019] (B) **hCD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**;
- [0020] (B) **hCD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)**; 또는
- [0021] (C) **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0022] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며,
- [0023] (A) 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0024] (B) 제1 경쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0025] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 상기 모든 구체예에 관한 것이며, 분자는 **TA**에 면역특이적으로 결합하는 제2 결합 부위를 포함하는 이중특이적 분자이고, 제2 결합 부위는 CDR_{L1}, CDR_{L2} 및 CDR_{L3}을 포함하는 제2 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_{H1}, CDR_{H2} 및 CDR_{H3}을 포함하는 제2 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0026] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, **TA**는 표 1-2에 제시된 종양 항원으로부터 선택된다.
- [0027] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, **TA**는 PD-L1이고:
- [0028] (A) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 경쇄 CDR이며;
- [0029] (B) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:59)**의 중쇄 CDR이다.
- [0030] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며,
- [0031] (A) (1) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58)**의 경쇄 CDR이거나; 또는
- [0032] (2) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)**의 경쇄 CDR이고; 및
- [0033] (B) (1) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0034] (2) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0035] (3) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0036] (4) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:69)**의 중쇄 CDR이거나;

- [0037] (5) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:70)의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0038] (6) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:71)의 중쇄 CDR이다.
- [0039] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 제2 중쇄 가변 도메인은:
- [0040] (A) hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57);
- [0041] (B) hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67);
- [0042] (C) hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68);
- [0043] (D) hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69);
- [0044] (E) hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70); 또는
- [0045] (F) hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0046] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 제2 경쇄 가변 도메인은:
- [0047] (A) hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58); 또는
- [0048] (B) hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0049] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, TA는 5T4이고:
- [0050] (A) (1) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)의 경쇄 CDR이며;
- [0051] (2) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0052] (B) (1) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 5T4 MAB-2 VL (서열 번호:95)의 경쇄 CDR이고;
- [0053] (2) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 5T4 MAB-2 VH (서열 번호:96)의 중쇄 CDR이다.
- [0054] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 제2 중쇄 가변 도메인은 5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0055] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 제2 경쇄 가변 도메인은 5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0056] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, TA는 HER2이고:
- [0057] (A) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VLx (서열 번호:79)의 경쇄 CDR이며;
- [0058] (B) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VHx (서열 번호:78)의 중쇄 CDR이다.
- [0059] 발명은 추가로 그러한 CD137 결합 분자의 구체예에 관한 것이며,
- [0060] (A) (1) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL1 (서열 번호:83)의 경쇄 CDR이거나;
- [0061] (2) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL2 (서열 번호:84)의 경쇄 CDR이거나; 또는
- [0062] (3) 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)의 경쇄 CDR이고;
- [0063] (B) (1) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80)의 중쇄 CDR이거나;
- [0064] (2) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH2 (서열 번호:81)의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0065] (3) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hHER2-MAB-1 VH3 (서열 번호:82)의 중쇄 CDR이다.

- [0066] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 제2 중쇄 가변 도메인은:
- [0067] (A) **hHER2-MAB-1 VHx** (서열 번호:78);
- [0068] (B) **hHER2-MAB-1 VH1** (서열 번호:80);
- [0069] (C) **hHER2-MAB-1 VH2** (서열 번호:81); 또는
- [0070] (D) **hHER2-MAB-1 VH3** (서열 번호:82)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0071] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 제2 경쇄 가변 도메인은:
- [0072] (A) **hHER2-MAB-1 VLx** (서열 번호:79);
- [0073] (B) **hHER2-MAB-1 VL1** (서열 번호:83);
- [0074] (C) **hHER2-MAB-1 VL2** (서열 번호:84); 또는
- [0075] (D) **hHER2-MAB-1 VL3** (서열 번호:85)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0076] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 상기 모든 구체예에 관한 것이며, 분자는 항체, 이중특이적 4가 Fc 함유 디아바디, 또는 이중특이적 3가 분자이다.
- [0077] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 분자는 이중특이적이고 4가이며, 제1, 제2, 제3, 제4, 및 선택적으로 제5 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성한다.
- [0078] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 분자는 이중특이적이고 3가이며, 제1, 제2, 제3, 및 제4 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성한다.
- [0079] 발명은 추가적으로 모든 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며 분자는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 아이소타입의 Fc 영역을 포함하고 선택적으로 분자는 힌지 도메인을 추가로 포함한다.
- [0080] 발명은 추가적으로 그러한 **CD137 결합 분자**의 모든 구체예에 관한 것이며 Fc 영역은 Fc γ R에 대한 변이 Fc 영역의 친화도를 감소시키고/거나 혈청 반감기를 향상시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 변이 Fc 영역이며, 보다 구체적으로 변형은 다음으로 이루어지는 군으로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 치환을 포함하고:
- [0081] (A) L234A; L235A;
- [0082] (B) L234A 및 L235A;
- [0083] (C) M252Y; M252Y 및 S254T;
- [0084] (D) M252Y 및 T256E;
- [0085] (E) M252Y, S254T 및 T256E; 또는
- [0086] (F) K288D 및 H435K;
- [0087] 여기서 넘버링은 KAbat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다.
- [0088] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, **TA**는 PD-L1이고:
- [0089] (A) 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 **서열 번호:116, 서열 번호:118, 서열 번호:120**의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0090] (B) 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 **서열 번호:117, 서열 번호:119, 서열 번호:121, 서열 번호:122, 서열 번호:123, 서열 번호:124, 서열 번호:125, 서열 번호:126**, 또는 **서열 번호:139**의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0091] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 분자는:
- [0092] (A) **서열 번호:116** 및 **서열 번호:117**;
- [0093] (B) **서열 번호:118** 및 **서열 번호:119**;
- [0094] (C) **서열 번호:120** 및 **서열 번호:119**;

- [0095] (D) 서열 번호:118 및 서열 번호:121;
- [0096] (E) 서열 번호:120 및 서열 번호:121;
- [0097] (F) 서열 번호:120 및 서열 번호:122;
- [0098] (G) 서열 번호:120 및 서열 번호:123;
- [0099] (H) 서열 번호:120 및 서열 번호:124;
- [0100] (I) 서열 번호:120 및 서열 번호:125;
- [0101] (J) 서열 번호:120 및 서열 번호:126; 또는
- [0102] (K) 서열 번호:120 및 서열 번호:139를 포함한다.
- [0103] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, **TA**는 PD-L1이고;
- [0104] (A) 제1 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:127, 서열 번호:133, 또는 서열 번호:135의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0105] (B) 제2 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:128, 서열 번호:134, 또는 서열 번호:136의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0106] (C) 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:129, 또는 서열 번호:131의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0107] (D) 제4 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:130, 서열 번호:132의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0108] 발명은 추가로 그러한 **CD137 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 분자는:
- [0109] (A) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:129, 및 서열 번호:130;
- [0110] (B) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132;
- [0111] (C) 서열 번호:133, 서열 번호:134, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132; 또는
- [0112] (D) 서열 번호:135, 서열 번호:136, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132를 포함한다.
- [0113] 발명은 추가적으로 위에서 기술된 **CD137 결합 분자**, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0114] 발명은 추가적으로 **TA**의 발현을 특징으로 하는 암의 치료에서의 그러한 **CD137 결합 분자**, 또는 그러한 제약학적 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0115] 발명은 추가적으로 CDR_{L1}, CDR_{L2} 및 CDR_{L3}을 포함하는 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_{H1}, CDR_{H2} 및 CDR_{H3}을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 **PD-L1 결합 분자**에 관한 것이며:
- [0116] (A) 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)**의 경쇄 CDR이고;
- [0117] (B) (1) 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0118] (2) 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0119] (3) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0120] (4) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70)**의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0121] (5) 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)**의 중쇄 CDR이다.
- [0122] 발명은 추가로 그러한 **PD-L1 결합 분자**의 구체예에 관한 것이며, 중쇄 가변 도메인은:
- [0123] (A) **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)**;
- [0124] (B) **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**;
- [0125] (C) **hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)**;

- [0126] (D) hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70); 또는
- [0127] (E) hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0128] 발명은 추가로 그러한 PD-L1 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 경쇄 가변 도메인은 hPD-L1 MAB-2 VL2의 아미노산 서열 (서열 번호:72)을 포함한다.
- [0129] 발명은 추가로 그러한 PD-L1 결합 분자의 구체예에 관한 것이며, 분자는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편이다.
- [0130] 발명은 추가적으로 위에서 기술된 PD-L1 결합 분자, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물에 관한 것이다.
- [0131] 발명은 추가적으로 억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의 그러한 PD-L1 결합 분자, 또는 그러한 제약학적 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0132] 발명은 추가로 그러한 용도에 관한 것이며, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 상태는 암이다.
- [0133] 발명은 추가적으로 모든 그러한 용도의 구체예에 관한 것이며, 암은: 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0134] 발명은 추가로 위에서 기술된 CD137 결합 분자 중 임의의 것, 위에서 기술된 PD-L1 결합 분자 중 임의의 것, 또는 위에서 기술된 제약학적 조성물 중 임의의 것과 조합된 종양 표적제를 투여하는 단계를 포함하는, 종양 표적화제의 활성을 증강시키는 방법에 관한 것이다.
- [0135] 발명은 추가적으로 필요로 하는 대상체에게 위에서 기술된 CD137 결합 분자 중 임의의 것, 위에서 기술된 PD-L1 결합 분자 중 임의의 것, 또는 위에서 기술된 제약학적 조성물 중 임의의 것을 투여하는 단계를 포함하는, 억제된 면역 체계와 관련되었거나 TA의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태를 치료하는 방법에 관한 것이다.
- [0136] 발명은 추가로 종양 표적화제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 그러한 방법에 관한 것이다.
- [0137] 발명은 추가로 그러한 방법에 관한 것이며, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 종양 TA의 발현을 특징으로 하는 상태는 암이다.
- [0138] 발명은 추가로 그러한 방법의 상기 모든 구체예에 관한 것이며, 종양 표적제는 항체, 항체의 에피토프 결합 단편, 또는 표적 세포의 T 세포 제지성 사멸을 매개하는 작용제이다.
- [0139] 발명은 추가적으로 그러한 방법의 구체예에 관한 것이며, 암은: 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택된다.
- [0140] 발명은 추가적으로 위의 구체예들 중 임의의 구체예의 CD137 결합 분자, 또는 위의 구체예들 중 임의의 구체예의 PD-L1 결합 분자를 암호화하는 핵산에 관한 것이다.
- [0141] 발명은 추가로 그러한 핵산을 포함하는 발현 벡터에 관한 것이다.
- [0142] 발명은 추가적으로 위의 구체예들 중 임의의 구체예에 따르는 핵산 또는 위의 구체예들 중 임의의 구체예의 발현 벡터를 포함하는 세포에 관한 것이다.
- [0143] 발명은 추가로 상기 세포가 포유류 세포인 그러한 세포에 관한 것이다.

도면의 간단한 설명

- [0144] 도 1A-1D는 Fc 영역을 포함하는 대표적인 공유 결합된 디아바디를 보여주는 개략도를 제공한다. 도 1A-1D는 2쌍의 폴리펩타이드 사슬 (즉, 전부 4개의 폴리펩타이드 사슬)로 구성된 4개의 에피토프 결합 부위를 가지는 4가 디아바디를 도시한다. 각 쌍의 하나의 폴리펩타이드는 CH2 및 CH3 도메인을 가져서, 회합된 사슬은 Fc 영역의

전부 또는 일부를 형성하게 된다. 동일한 에피토프를 인식하는 VL 및 VH 도메인은 동일한 음영 또는 채우기 패턴을 사용하여 도시된다. 2쌍의 폴리펩타이드 사슬은 동일할 수 있다. VL 및 VH 도메인이 상이한 에피토프를 인식하는 그러한 구체예에서 (**도 1A-1B**에서 도시된 것과 같음), 결과적으로 생성된 분자는 4개의 에피토프 결합 부위를 가지며 각각의 결합된 에피토프와 관련하여 이중특이적이고 2가이다. VL 및 VH 도메인이 동일한 에피토프를 인식하는 그러한 구체예에서 (예컨대, 동일한 VL 도메인 CDR 및 동일한 VH 도메인 CDR이 두 사슬 모두에서 사용됨), 결과적으로 생성된 분자는 4개의 에피토프 결합 부위를 가지며 단일 에피토프와 관련하여 단일특이적이고 4가이다. 대안으로, 2쌍의 폴리펩타이드는 상이할 수 있다. 각 쌍의 폴리펩타이드의 VL 및 VH 도메인이 상이한 에피토프를 인식하는 그러한 구체예에서 (**도 1C**에서 도시된 것과 같음), 결과적으로 생성된 분자는 4개의 에피토프 결합 부위를 가지며 각각의 결합된 에피토프와 관련하여 사중특이적이고 1가이다. **도 1A**는 시스템인 잔기를 포함하는 펩타이드 헤테로다имер 촉진 도메인을 함유하는 Fc 디아바디를 도시한다. **도 1B**는 각각 E-코일 또는 K-코일 헤테로다имер 촉진 도메인을 가지는 2쌍의 폴리펩타이드 사슬 (즉, 전부 4개의 폴리펩타이드 사슬)로 구성된 Fc 디아바디를 도시한다. 이 도면 및 결합 분자 도메인의 개략도를 제공하는 모든 도면에서 파선 (WWW)은 존재하는 하나 이상의 선택적인 헤테로다имер 촉진 도메인을 나타낸다. 도시된 것과 같이, 시스템인 잔기는 링커에 (주요도) 및/또는 헤테로다имер 촉진 도메인에 (박스 안) 존재할 수 있다. 각 쌍의 하나의 폴리펩타이드 사슬은 시스템을 포함하는 링커 (링커는 힌지 영역의 전부 또는 일부를 포함할 수 있음) 및 CH2 및 CH3 도메인을 가져서, 회합된 사슬은 Fc 영역의 전부 또는 일부를 형성하게 된다. **도 1C**는 항체 CH1 및 CL 도메인을 함유하는 Fc-영역 함유 디아바디를 도시한다. **도 1D**는 3개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 2개의 에피토프 결합 부위를 갖는 대표적인 공유 결합된 디아바디를 도시한다. 폴리펩타이드 사슬 중 2개는 CH2 및 CH3 도메인을 가져서, 회합된 사슬은 Fc 영역의 전부 또는 일부를 형성하게 된다. VL 및 VH 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬은 추가로, 여기서는 시스템인 잔기를 포함하는 것으로 도시된 헤테로다имер 촉진 도메인을 포함한다.

도 2는 5개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 4개의 에피토프 결합 부위를 가지는 대표적인 공유 결합된 결합 분자의 개략도를 제공한다. 폴리펩타이드 사슬 중 2개는 시스템을 포함하는 링커 (링커는 힌지 영역의 전부 또는 일부를 포함할 수 있음) 및 CH2 및 CH3 도메인을 가져서, 회합된 사슬은 Fc 영역의 전부 또는 일부를 포함하는 Fc 영역을 형성하게 된다. 연결된 VL 및 VH 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 사슬은 추가로 링커 및 헤테로다имер 촉진 도메인을 포함한다 (추가로 **도 1B**에 기술됨). 동일한 에피토프를 인식하는 VL 및 VH 도메인은 동일한 음영 또는 채우기 패턴을 사용하여 도시된다. 가변 도메인은 **TA**에 대해 특이적인 2개의 비-디아바디형 결합 도메인 및 CD137에 대해 특이적인 2개의 디아바디형 결합 도메인을 갖는 결과적인 **CD137 x TA 결합 분자**를 생성하도록 선택될 수 있다. 대안으로, 가변 도메인은 CD137에 대해 특이적인 2개의 비-디아바디형 결합 도메인 및 **TA**에 대해 특이적인 2개의 디아바디형 결합 도메인을 갖는 결과적인 **CD137 x TA 결합 분자**를 생성하도록 선택될 수 있다. 그러한 분자는 이중특이적이고 동일하거나 상이한 CD137 에피토프에 결합할 수 있는 CD137에 대한 2개의 결합 부위, 및 동일하거나 상이한 **TA** 에피토프에 결합할 수 있는 **TA**에 대한 2개의 결합 부위를 가진다.

도 3A-3C는 3개의 에피토프 결합 부위를 가지는 대표적인 Fc 영역 함유 3가 결합 분자의 개략도를 제공한다. **도 3A**는 링커/헤테로다имер 촉진 도메인을 통해 공유 결합된 2개의 디아바디형 결합 도메인 (**도 1B**에서 추가로 기술됨) 및 결합 도메인이 Fc 영역에 대해 N-말단에 있는 Fab형 결합 도메인을 포함하는 3가 결합 분자의 도메인을 개략적으로 예시한다. **도 3A**에서 분자는 4개의 사슬을 포함한다. **도 3B-3C**는, 각각, 2개의 디아바디형 결합 도메인, 및 경쇄 및 중쇄가 폴리펩타이드 스페이서를 통해 연결되어 있는 Fab형 결합 도메인을 포함하는, 또는 scFv형 결합 도메인을 포함하는 3가 결합 분자의 도메인을 개략적으로 예시한다. **도 3B-3C**에서 3가 결합 분자는 3개의 사슬을 포함한다. 동일한 에피토프를 인식하는 VL 및 VH 도메인은 동일한 음영 또는 채우기 패턴을 사용하여 도시된다.

도 4는 조작된 CHO 세포 표면 상에 발현된 CD137에 결합하는 **CD137 x TA** 결합 분자 **DART-A**, **TRIDENT-A**, 비교기 (comparator) 분자 **TRIDENT-2**, 및 음성 대조군 **hIgG1**의 능력을 도시한다.

도 5A-5B는 조작된 CHO 세포 표면 상에 발현된 PD-L1에 결합하는 **CD137 x TA** 결합 분자 **DART-A**, **TRIDENT-A**, **hPD-L1 MAB-2(1.1)**, 및 음성 대조군 **hIgG1**의 능력 (**도 5A**) 및 PD-L1 리포터 검정에서 PD-L1/PD-1 상호작용을 차단하는 능력 (**도 5B**)을 도시한다.

도 6은 CD137 리포터 검정에서 표적 의존성 신호 변환을 매개하는 **CD137 x TA** 결합 분자 **DART-A**, **TRIDENT-A**, 비교기 분자: **DART-2**, 및 **TRIDENT-2**, **DART-3**, **r-우렐루맵**, 및 음성 대조군: **DART-1** 및 **hIgG1**의 능력을 도시한다.

도 7A-7B는 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정에서 사이토카인 INF- γ (도 7A) 및 IL-2 (도 7B)의 표적 의존성 방출을 매개하는 CD137 x TA 결합 분자 DART-A, TRIDENT-A, 비교기 분자: DART-2, 및 TRIDENT-2, DART-3, r-우렐루맵, 및 음성 대조군: DART-1 및 hIgG1의 능력을 도시한다.

도 8A-8C는 CD137 x TA 결합 분자 TRIDENT-A에 의한 면역 세포의 혈청 수준 및 증식의 유도를 도시한다. 1 mg/kg (채워진 원형) 또는 10 mg/kg (개방 원형)의 TRIDENT-A로 처리된 시노몰구스 원숭이에서 20-24일 동안의 약동학 (혈청 제거율) (도 8A), CD8⁺ T 세포 증식 (도 8A), NK 세포 증식 (도 8A)이 지표로 도시된다.

도 9A-9B는 hPD-L1 MAB-2(1.1)의 탈면역화된/최적화된 변이체를 포함하는 Fab의 결합 활성을 도시한다. Fab 변이체 hPD-L1 MAB-2B, hPD-L1 MAB-2D, 및 hPD-L1 MAB-2F (도 9A) 및 hPD-L1 MAB-2A, hPD-L1 MAB-2C, 및 hPD-L1 MAB-2E (도 9B)의 ELISA 결합 곡선이 도표화된다.

도 10A-10B는 조작된 CHO 세포의 세포 표면 상에 발현된 PD-L1에 결합하는, 탈면역화된 또는 최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A1, DART-A4, 및 항-PD-L1 항체 hPD-L1 MAB-2(1.1) (도 10A), TRIDENT-A, TRIDENT-A4, 및 음성 대조군 hIgG1 (도 10B)의 결합 곡선이 도표화된다.

도 11A-11C는 PD-L1 리포터 검정에서 PD-L1/PD-1 상호작용을 차단하는, 탈면역화된 및/또는 최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A1, DART-A4, 및 항-PD-L1 항체 hPD-L1 MAB-2(1.1) (도 11A), TRIDENT-A, TRIDENT-A4, 및 음성 대조군 hIgG1 (도 11B), DART-A4, DART-A7, DART-A8, DART-A9, 및 음성 대조군 hIgG1 (도 11C)의 활성 곡선이 도표화된다.

도 12A-12B는 조작된 CHO 세포 표면 상에 발현된 CD137에 결합하는, 탈면역화된 CD137 결합 도메인 및/또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A4, DART-A5, DART-A6 (도 12A), TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, TRIDENT-A6 (도 12B)에 대한 결합 곡선이 도표화된다. 또한 두 도면 모두에 비교기 r-우렐루맵 및 음성 대조군 hIgG1가 도표화된다.

도 13A-13B는 낮은 PD-L1 발현 N87 표적 세포 (도 13A), 또는 중간 발현 JIMT-1 표적 세포 (도 13B)를 사용하여 수행된 CD137 리포터 검정에서 표적 의존성 신호 변환을 매개하는, 탈면역화된 CD137 결합 도메인, 및/또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A4, DART-A5, DART-A6, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, TRIDENT-A6, 비교기 r-우렐루맵 및 음성 대조군 hIgG1의 활성이 도표화된다.

도 14A-14B는 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정에서 사이토카인 INF- γ (도 14A) 및 IL-2 (도 14B)의 표적 의존성 방출을 매개하는, 탈면역화된 CD137 결합 도메인, 및 탈면역화된/최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A4, DART-A5, DART-A6, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, TRIDENT-A6, 비교기 r-우렐루맵 및 음성 대조군 hIgG1의 활성이 도표화된다.

도 15A-15B는 조작된 CHO 세포의 세포 표면 상에 발현된 PD-L1 (도 15A) 및 CD137 (도 15B)에 결합하는, 모 (parental), 또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및/또는 CD137 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, 항-PD-L1 항체 hPD-L1 MAB-2(1.1), 및 r-아테졸리주맵(atezolizumab), 및 음성 대조군 hIgG1 (도 15A), DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, r-우렐루맵, 및 음성 대조군 hIgG1 (도 15B)의 결합 곡선이 도표화된다.

도 16A-16B는 PD-L1 리포터 검정에서 PD-L1/PD-1 상호작용을 차단하는, 모, 또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및/또는 CD137 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. 4가 분자 DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10에 대한 결과가 도 16A에 도표화되며, 3가 분자 TRIDENT-A, TRIDENT-A4, 및 TRIDENT-A6에 대한 결과가 도 16B에 도표화된다. 또한 두 도면 모두에 항-PD-L1 항체 hPD-L1 MAB-2F 및 r-아테졸리주맵, 및 음성 대조군 hIgG1이 도표화된다.

도 17A-17B는 중간 PD-L1 발현 JIMT-1 표적 세포의 존재 하에 (도 17A), 또는 표적 세포의 부재 하에 (도 17B) 수행된 CD137 리포터 검정에서 표적 의존성 신호 변환을 매개하는, 모, 또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및/또는 CD137 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, TRIDENT-A, TRIDENT-A4, TRIDENT-A6, 비교기 r-우렐루맵 및 음성 대조군 hIgG1의 활성이 도표화된다.

도 18A-18B는 사이토카인 INF- γ (도 18A) 및 IL-2 (도 18B)의 표적 의존성 방출을 매개하는, 모, 또는 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및/또는 CD137 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-A,

DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, TRIDENT-A, TRIDENT-A4, TRIDENT-A6, r-아테졸리주맙 및 r-우렐루맙의 조합(r-atezo + r-ure 콤보) 및 음성 대조군 hIgG1의 활성이 도표화된다.

도 19A-19C는 쥐과 PBMC-재구성 이중이식 모델에서 TA x CD3 이중특이적 분자 단독 또는 비히클 대조군과 비교하여 생체내에서 RKO 결장 암종의 종양 성장 또는 발달을 방지 또는 억제하는, 대표적인 TA x CD3 이중특이적 분자 (5T4 x CD3 디아바디)와 조합된 여러 대표적인 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자: DART-A (도 19A), TRIDENT-A(도 19B), 또는 TRIDENT-A4 (도 19C)의 능력을 도시한다.

도 20A-20B는 쥐과 PBMC-재구성 이중이식 모델에서 TA x CD3 이중특이적 분자 단독 또는 비히클 대조군과 비교하여 생체내에서 RKO 결장 암종 세포의 종양 성장 또는 발달을 방지 또는 억제하는, 대표적인 TA x CD3 이중특이적 분자 (5T4 x CD3 디아바디)와 조합된 여러 대표적인 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자: DART-A6 (도 20A), 또는 TRIDENT-A6 (도 20B)의 능력을 도시한다.

도 21A-21B는 쥐과 PBMC-재구성 이중이식 모델에서 비히클 대조군과 비교하여 생체내에서 RKO 결장 암종 세포의 종양 성장 또는 발달을 방지 또는 억제하는, 대표적인 TA x CD3 이중특이적 분자 (5T4 x CD3 디아바디)와 조합된, 여러 대표적인 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자: CD137 MAB-6 결합 도메인의 VH/VL을 포함하는 TRIDENT-A, TRIDENT-A6, 또는 상이한 CD137 결합 도메인의 VH/VL을 포함하는 비교기 분자: TRIDENT-2, DUO-1의 능력을 도시한다. 제1 연구로부터의 대표적인 데이터는 도 21A에, 그리고 제2 연구로부터의 대표적인 데이터는 도 21B에 도표화된다.

도 22A-22B는 중간 HER2 발현 JIMT-1 세포 (도 22A), 또는 높은 HER2 발현 N87 표적 세포 (도 22B)를 사용하여 수행된 CD137 리포터 검정에서 표적 의존성 신호 변환을 매개하는, CD137 결합 도메인, 및 HER2 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-B1, DART-B2, TRIDENT-B1, TRIDENT-B2, 모 hHER2 MAB-1(1.3) 및 CD137 MAB-6(1.1) 항체, 및 음성 대조군, DART-4, DART-5, TRIDENT-3, TRIDENT-4의 활성이 도표화된다.

도 23A-23D는 중간 HER2 발현 JIMT-1 세포 (도 22A 및 23C), 또는 높은 HER2 발현 N87 표적 세포 (도 22B 및 23D)를 사용하여 수행된 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정에서 사이토카인 INF- γ (도 23A 및 23B) 및 IL-2 (도 23C 및 23D)의 표적 의존성 방출을 매개하는, CD137 결합 도메인, 및 HER2 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자의 능력을 도시한다. DART-B1, DART-B2, TRIDENT-B1, TRIDENT-B2, 모 hHER2 MAB-1(1.3) 및 CD137 MAB-6(1.1) 항체, 및 음성 대조군, DART-4, DART-5, TRIDENT-3, TRIDENT-4의 활성이 도표화된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0145] 본 발명은 CD137의 에피토프에 결합할 수 있는 CD137 결합 분자, 예컨대 단일특이적 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자에 관한 것이다. 발명은 추가로 CD137의 에피토프 및 제2 항원, 특히 종양 항원 ("TA")의 에피토프 둘 다에 결합할 수 있는 다중특이적 CD137 결합 분자 (예컨대, 이중특이적 항체, 이중특이적 디아바디, BiTE, 3가 결합 분자, 등) (예컨대, "CD137 x TA 결합 분자")에 관한 것이다. 발명은 또한 PD-L1의 에피토프에 결합할 수 있는 신규한 PD-L1 결합 분자, 예컨대 단일특이적 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자, 뿐만 아니라 그것의 유도체 및 그것의 용도를 제공한다. 본 발명은 또한 그러한 분자를 포함하는 제약학적 조성물에 관한 것이다. 발명은 또한 질환, 특히 암 또는 억제된 면역 체계의 존재와 관련된 또는 억제된 면역 체계의 존재를 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의 그러한 분자의 용도를 포함한다.

[0146] I. 항체 및 다른 결합 분자

[0147] 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 항체이거나, 항체로부터 유래될 수 있다 (예컨대 항체 폴리펩타이드의 단편화, 절단, 등에 의해, 또는 항체 분자의 아미노산 서열의 사용 또는 그러한 폴리뉴클레오타이드를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 (또는 그것의 서열)의 사용으로부터).

[0148] A. 항체

[0149] 항체는 분자, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드, 등 ("항원")의 표적 영역 ("에피토프")에, 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 "에피토프 결합 부위"를 통해 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "항체" 및 "항체들"은 단클론성 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 합성 항체, 키메라 항체, 다클론성 항체, 카멜화된 항체, 단일 사슬 Fv (scFv), 단일 사슬 항체, Fab 단편, F(ab') 단편, 이항화 연결된 이중특이적 Fv (sdFv), 인트라바디, 및 상기의 것들 중 어느 것의 에피토프 결합 단편을 나타낸다. 특히, 용어 "항체"는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린

분자의 면역학적으로 활성인 단편, 즉, 에피토프 결합 부위를 함유하는 분자를 포함한다. 면역글로불린 분자는 임의의 유형 (예컨대, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류 (예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 하위부류의 것일 수 있다. 항체는 폴리펩타이드 또는 단백질 또는 비-단백질 분자에, 그러한 분자 상의 특정 도메인 또는 모이어티 또는 입체형태 ("에피토프")로 인해 "면역특이적으로 결합"할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "**항체의 에피토프 결합 단편**"은 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 항체의 부분을 나타내는 것을 의도한다. 본원에서 사용되는 바, 그러한 용어는 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂ Fv), 및 단일 사슬 (scFv), 뿐만 아니라 디아바디의 에피토프 결합 도메인을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, 항체 또는 그것의 에피토프 결합 단편은 만약 그것이 대체 에피토프에 비해 그 에피토프와 더 큰 기간으로 및/또는 더 큰 친화도 또는 결합력으로 더 빈번하게, 더 신속하게 반응하거나 회합한다면 또 다른 분자의 영역 (즉, 에피토프)에 "면역특이적으로" 결합한다고 말할 수 있다. 또한 예를 들어, 제1 표적에 면역특이적으로 결합하는 항체 또는 그것의 에피토프 결합 단편은 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하거나 그렇지 않을 수 있음이 본 정의를 관독함으로써 이해된다. 에피토프 함유 분자는 면역원성 활성을 가져서, 그것이 동물에서 항체 생성 반응을 유도할 수 있게 되며; 그러한 분자는 "**항원**"으로 명명된다. 천연 항체는 단지 하나의 에피토프 종에 결합할 수 있지만 (즉, 그것은 "단일특이적"임), 그것은 그 종의 다수의 복사물에 결합할 수 있다 (즉, "**이가**" 또는 "**다가**"를 나타냄).

[0150] 용어 "**단클론성 항체**"는 균일한 항체 집단을 나타내며, 단클론성 항체는 항원의 선택적 결합에 연루된 (자연적으로 발생하는 또는 자연적으로 발생하지 않는) 아미노산으로 구성된다. 단클론성 항체는 매우 특이적이고, 단일 에피토프 (또는 항원성 부위)에 대해 직접 지시된다. 용어 "단클론성 항체"는 온전한 단클론성 항체 및 전장 단클론성 항체뿐만 아니라, 그것의 단편 (예컨대 Fab, Fab', F(ab')₂ Fv), 단일 사슬 (scFv), 그것의 돌연변이, 항체 부분을 포함하는 융합 단백질, 인간화된 단클론성 항체, 키메라 단클론성 항체, 및 필요한 특이성의 항원 인식 부위 및 항원에 대한 결합 능력을 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성을 포함한다. 항체의 공급원 또는 그것이 만들어지는 방식 (예컨대 하이브리도마, 과지 선택, 재조합 발현, 형질도입 동물, 등에 의한)과 관련하여 제한되는 것으로 의도되지 않는다. 용어는 전체 면역글로불린뿐만 아니라 "항체"의 정의 하에 위에서 기술된 단편 등을 포함한다. 단클론성 항체의 제조 방법은 기술분야에 알려져 있다. 사용될 수 있는 한 가지 방법은 Kohler, G. 등 (1975) "*Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity*", Nature 256:495-497의 방법 또는 그것의 변형 방법이다. 전형적으로, 단클론성 항체는 마우스, 래트 또는 토끼에서 개발된다. 항체는 동물을 원하는 에피토프를 함유하는 면역원성 양의 세포, 세포 추출물, 또는 단백질 조제물로 면역화함으로써 생성된다. 면역원은, 한정하는 것은 아니지만, 일차 세포, 배양 세포주, 암성 세포, 단백질, 펩타이드, 핵산, 또는 조직일 수 있다. 대안으로, 원하는 병원성 에피토프에 대해 면역특이적인 기존의 단클론성 항체 및 임의의 다른 동등한 항체는 기술분야에 알려져 있는 임의의 방법에 의해 서열분석되고 재조합에 의해 생성될 수 있다. 한 구체예에서, 그러한 항체가 서열분석되고 그런 후 폴리뉴클레오타이드 서열이 발현 또는 증식을 위해 벡터에 클로닝된다. 관심의 항체를 암호화하는 서열은 숙주 세포에서 벡터로 유지될 수 있고 숙주 세포는 그런 후 미래의 사용을 위해 팽창되고 냉동될 수 있다. 그러한 항체의 폴리뉴클레오타이드 서열은 발명의 단일특이적 또는 다중특이적 (예컨대, 이중특이적, 삼중특이적 및 사중특이적) 분자뿐만 아니라 항체의 친화성, 또는 다른 특징을 개선하기 위하여 친화성 최적화된, 키메라 항체, 인간화된 항체, 및/또는 개과화된 항체를 생성하기 위해 유전자 조작에 사용될 수 있다. 항체를 인간화하는 데 일반적인 원리는 항체의 에피토프 결합 부분의 기본적인 서열을 유지하면서, 항체의 비-인간 나머지를 인간 항체 서열로 교환하는 것을 포함한다.

[0151] 지난 수십년은 항체의 치료적 잠재력에 관심이 부활하였으며, 항체는 생명공학 유래 약물의 선두 부류 중 하나가 되었다. 200개 이상의 항체 기반 약물이 사용이 승인되었거나 개발 중에 있다.

[0152] **1. 항체의 일반적인 구조적 속성**

[0153] 자연적으로 발생하는 면역글로불린 (예컨대, IgG)의 기본적인 구조 단위는 2개의 긴 "**중쇄**"와 복합체를 이룬 2개의 짧은 "**경쇄**"로 구성된 테트라머이며 보통 약 150,000 Da의 당단백질로서 표시된다. 각각의 사슬은 "**가변 도메인**"을 포함하는 아미노 말단 ("**N-말단**") 부분과 적어도 하나의 "**불변 도메인**"을 포함하는 카르복시 말단 ("**C-말단**")으로 구성된다. IgG 경쇄는 단일 "**경쇄 가변 도메인**" ("**VL**") 및 단일 "**경쇄 불변 도메인**" ("**CL**")으로 구성된다. 그러므로, IgG 분자의 경쇄의 구조는 n-VL-CL-c (n과 c는 각각 폴리펩타이드의 N-말단 및 C-말단을 나타냄)이다. IgG 중쇄는 단일 "**중쇄 가변 도메인**" ("**VH**"), 3개의 "**중쇄 불변 도메인**" ("**CH1**", "**CH2**" 및 "**CH3**"), 및 CH1과 CH2 도메인 사이에 위치한 "**힌지**" 영역 ("**H**")으로 구성된다. 그러므로, IgG 중쇄의 구조는 n-

VH-CH1-H-CH2-CH3-c (n과 c는 각각 폴리펩타이드의 N-말단 및 C-말단을 나타냄)이다. 온전한, 비변형 항체 (예컨대, IgG 항체)의 항원의 에피토프에 결합하는 능력은 가변 도메인의 존재 및 서열에 따라 달라진다.

[0154] a) 불변 도메인

[0155] (1) 경쇄 불변 도메인

[0156] 대표적인 CL 도메인은 인간 IgG CL 카파 도메인이다. 대표적인 인간 CL 카파 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:1)이다:

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK
SFNRGEC

[0157]

[0158] 대안으로, 대표적인 CL 도메인은 인간 IgG CL 람다 도메인이다. 대표적인 인간 CL 람다 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:2)이다:

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA
GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP
TECS

[0159]

[0160] (2) 중쇄 CH1 도메인

[0161] 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG1 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG1 CH1 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:3)이다:

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

[0162]

[0163] 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG2 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG2 CH1 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:4)이다:

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

[0164]

[0165] 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG3 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG3 CH1 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:5)이다:

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRV

[0166]

[0167] 대표적인 CH1 도메인은 인간 IgG4 CH1 도메인이다. 대표적인 인간 IgG4 CH1 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:6)이다:

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

[0168]

[0169] (3) 중쇄 힌지 영역

[0170] 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG1 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG1 힌지 영역의 아미노산 서열은 (서열 번호:7)이다:

[0171] EPKSCDKTHT CPPCP

[0172] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG2 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG2 힌지 영역의 아미노산 서열은 (서열 번호:8)이다:

[0173] ERKCCVECPC CP

[0174] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG3 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG3 힌지 영역의 아미노산 서열은 (서열 번호:9)이다:

ELKTPPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK
SCDTPPPCPR CP

[0175]

[0176] 또 다른 대표적인 힌지 영역은 인간 IgG4 힌지 영역이다. 대표적인 인간 IgG4 힌지 영역의 아미노산 서열은 (서열 번호:10)이다:

[0177] ESKYGPPCPS CP

[0178] 본원에서 기술되는 바, IgG4 힌지 영역은 S228P 치환 (Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되는 바)과 같은 안정화 돌연변이를 포함할 수 있다. 대표적인 안정화된 IgG4 힌지 영역의 아미노산 서열은 (서열 번호:11)이다:

[0179] ESKYGPPCPP CP

[0180] (4) 중쇄 CH2 및 CH3 도메인

[0181] 2개의 중쇄의 CH2 및 CH3 도메인은 상호작용하여, 한정하는 것은 아니지만 Fc 감마 수용체 (FcγR)를 포함하여, 세포의 Fc 수용체에 의해 인식되는 IgG 항체의 "Fc 영역"을 형성한다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "Fc 영역"은 IgG 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. Fc 영역의 부분 (전체 Fc 영역을 포함하는 부분을 포함함)은 본원에서 "Fc 도메인"으로서 언급된다. Fc 영역은 만약 그것의 아미노산 서열이 다른 IgG 아이소타입에 비해 그 아이소타입에 가장 상동하다면 특별한 IgG 아이소타입, 부류 또는 하위부류의 것이라고 말할 수 있다. 진단에서의 알려진 용도 외에, 항체는 치료제로서 유용한 것으로 나타났다.

[0182] 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:12)이다:

```

231      240      250      260      270      280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
      340      350      360      370      380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME
      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0183]

[0184] Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되며, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0185] 대표적인 인간 IgG2의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:13)이다:

```

231      240      250      260      270      280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD
      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
      340      350      360      370      380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE
      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME
      440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0186]

[0187] Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되며, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0188] 대표적인 인간 IgG3의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:14)이다:

```

231      240      250      260      270      280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

      340      350      360      370      380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

      390      400      410      420      430
WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE

      440      447
ALHNRFTQKS LSLSPGX
    
```

[0189] Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되며, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0191] 대표적인 인간 IgG4의 CH2-CH3 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:15)이다:

```

231      240      250      260      270      280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD

      290      300      310      320      330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS

      340      350      360      370      380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

      390      400      410      420      430
WESNGQPENN YKTPPVLDL DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE

      440      447
ALHNHYTQKS LSLSLGX
    
```

[0192] Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되며, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0194] 본 명세서 전체에서, IgG 중쇄의 불변 영역의 잔기의 넘버링은 분명하게 본원에 참조로 포함된 Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991) ("Kabat")에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 용어 "Kabat에서의 EU 인덱스"는 인간 IgG1 EU 항체의 불변 도메인의 넘버링을 나타낸다.

[0195] 다형성은 항체 불변 영역 내의 많은 상이한 위치에서 관찰되었고 (예컨대, Kabat에서 제시된 EU 인덱스에 의해 넘버링되는 바, Fc 위치, 한정하는 것은 아니지만 위치 270, 272, 312, 315, 356, 및 358을 포함한 Fc 위치), 그러므로 제공된 서열과 선행 기술의 서열 사이에는 약간의 차이가 있을 수 있다. 인간 면역글로불린의 다형성 형태는 잘 특성화되어 있다. 현재, 18개의 Gm 알로타입이 알려져 있다: G1m (1, 2, 3, 17) 또는 G1m (a, x, f, z), G2m (23) 또는 G2m (n), G3m (5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 28) 또는 G3m (b1, c3, b3, b0, b3, b4, s, t, g1, c5, u, v, g5) (Lefranc, *et al.*, "The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation". Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990); Lefranc, G. *et al.*, 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211). 본 발명의 항체는 임의의 면역글로불린 유전자좌의 임의의 알로타입, 아이소알로타입, 또는 하플로타입을 통합할 수 있고, 본원에 제공된 서열의 알로타입, 아이소알로타입, 또는 하플로타입에 제한되지 않는 것이 구체적으로 고려된다. 나아가, 일부 발현 시스템에서 CH3 도메인의 C-말단 아미노산 잔기 (위에서 진하게 표시됨)는 번역 후에 제거될 수 있다. 따라서, CH3 도메인의 C-말단 잔기는 발명의 분자의 선택적인 아미노산 잔기이다. CH3 도메인의 C-말단 잔기가 없는 발명의 분자가 본 발명에 구체적으로 포함된다. 또한 CH3 도메인의 C-말단 리신 잔기를 포함하는 그러한 분자가 본 발명에 구체적으로 포함된다.

[0196] b) 가변 도메인

- [0197] IgG 분자의 가변 도메인은 에피토프와 접촉하게 될 항체의 아미노산 잔기를 함유하는 3개의 "상보성 결정 영역" ("CDR"), 뿐만 아니라 일반적으로 그러한 접촉을 허용하기 위하여 CDR 루프의 구조를 유지하고 위치를 결정하는, "프레임워크 영역" ("FR")으로 언급되는 개재하는 비-CDR 분절 (비록 특정 프레임워크 잔기가 또한 에피토프와 접촉할 수 있긴 함)로 이루어진다. 그러므로, VL 및 VH 도메인은 **n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c**의 구조를 가진다. CDR의 아미노산 서열은 항체가 특정 에피토프에 결합할 수 있을지의 여부를 결정한다. 항체 경쇄와 항체 중쇄와의 상호작용 및, 특히, 그것들의 VL과 VH 도메인의 상호작용은 항체의 에피토프 결합 부위를 형성한다.
- [0198] 면역글로불린의 성숙한 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인으로부터의 아미노산은 사슬에서 아미노산의 위치에 의해 표시된다. Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NIH, MD (1991))은 항체에 대한 수많은 아미노산 서열을 기술하였고, 각각의 하위그룹에 대한 아미노산 공통 서열을 확인하였으며, 각각의 아미노산에 잔기 번호를 할당하였고, CDR 및 FR은 Kabat에 의해 정의된 대로 확인된다 (Chothia, C. & Lesk, A. M.에 의해 정의된 CDR_{H1} ((1987) "*Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins*", J. Mol. Biol. 196:901-917)은 5개 잔기 더 앞에서 시작되는 것이 이해될 것이다). Kabat의 넘버링 도식은 문제의 항체를 보존된 아미노산을 참조로 Kabat의 공통 서열 중 하나와 정렬함으로써 그의 개요서에 포함되지 않은 항체에 확장될 수 있다. 잔기 번호를 할당하는 이런 방법은 이 분야에서 표준이 되었고 키메라 또는 인간화된 변이체를 포함하여, 상이한 항체에서 동등한 위치에 있는 아미노산이 쉽게 확인된다. 예를 들어, 인간 항체 경쇄의 위치 50에 있는 아미노산은 마우스 항체 경쇄의 위치 50에 있는 아미노산과 동등한 위치를 차지한다. 그러므로 VL 및 VH 도메인 내에서 CDR이 시작되고 끝나는 위치는 잘 정의되며 VL 및 VH 도메인의 서열의 조사에 의해 확실해질 수 있다 (예컨대, Martin, C.R. (2010) "*Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*", In: Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann, R. and Dubel, S. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 3 (pages 33-51) 참고).
- [0199] 항체의 경쇄의 제1, 제2 및 제3 CDR인 (또는 CDR로서 작용할 수 있는) 폴리펩타이드는 본원에서 각각: **CDR₁ 도메인**, **CDR₂ 도메인**, 및 **CDR₃ 도메인**으로서 표시된다. 유사하게, 항체의 중쇄의 제1, 제2 및 제3 CDR인 (또는 CDR로서 작용할 수 있는) 폴리펩타이드는 본원에서 각각: **CDR_{H1} 도메인**, **CDR_{H2} 도메인**, 및 **CDR_{H3} 도메인**으로서 표시된다. 그러므로, 용어 CDR_{L1} 도메인, CDR_{L2} 도메인, CDR_{L3} 도메인, CDR_{H1} 도메인, CDR_{H2} 도메인, 및 CDR_{H3} 도메인은 단백질에 통합되었을 때 그러한 단백질이 경쇄 및 중쇄를 가진 항체이거나 디아바디 또는 단일 사슬 결합 분자 (예컨대, scFv, BiTe, 등)이거나, 또는 또 다른 유형의 단백질이거나에 관계 없이 특정 에피토프에 결합할 수 있는 그 단백질을 유발하는 폴리펩타이드에 관한 것이다. 따라서, 본원에서 사용되는 바, 용어 "**에피토프 결합 단편**"은 면역특이적으로 에피토프에 결합할 수 있는 분자의 단편을 나타낸다. 에피토프 결합 단편은 항체의 임의의 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 CDR 도메인을 함유하거나, 또는 항체의 전부 6개의 CDR 도메인을 함유할 수 있고, 그러한 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있긴 하지만, 그러한 항체의 것과 상이한 그런 에피토프를 향한 면역원성, 친화도 또는 선택성을 나타낼 수 있다. 그러나, 전형적으로, 에피토프 결합 단편은 그러한 항체의 전부 6개의 CDR 도메인을 함유할 수 있다. 항체의 에피토프 결합 단편은 단일 폴리펩타이드 사슬 (예컨대, scFv)이거나, 또는 각각이 아미노 말단 및 카르복시 말단을 가지는 둘 이상의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다 (예컨대, 디아바디, Fab 단편, Fab₂ 단편, 등). 구체적으로 언급되지 않는 한, 본원에 기술된 단백질 분자의 도메인의 순서는 "**N-말단에서 C-말단 쪽**" 방향이다.
- [0200] 에피토프 결합 부위는 불변 도메인에 융합된 완전한 가변 도메인 또는 적절한 프레임워크 영역에 그래프팅된 그러한 가변 도메인의 상보성 결정 영역 (CDR)만을 포함할 수 있다. 에피토프 결합 부위는 야생형이거나 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 변형될 수 있다.
- [0201] **c) 항체의 인간화**
- [0202] 발명은 특히 인간화된 항체의 VL 및/또는 VH 도메인을 포함하는 결합 분자 (항체 및 디아바디 포함)를 포함한다. 용어 "**인간화된**" 항체는 일반적으로 비인간 종으로부터의 면역글로불린의 에피토프 결합 부위 및 인간 면역글로불린의 구조 및/또는 서열을 토대로 한 분자의 나머지 면역글로불린 구조를 가진, 재조합 기법을 사용하여 제조된 키메라 분자를 나타낸다. 그러한 항체의 가변 도메인의 폴리뉴클레오타이드 서열은 그러한 유도체를 생성하기 위한 및 그러한 항체의 친화도, 또는 다른 특징을 개선하기 위한 유전자 조작을 위해 사용될 수 있다. 중쇄 및 경쇄 둘 다의 가변 도메인은 문제의 항원에 대한 반응이 다양하고 결합 능력을 결정하는, 주어진 종에서 상대적으로 보존되고 CDR에 대한 스캐폴딩을 제공하는 것으로 추정되는 4개의 FR에 의해 플랭킹된 3개의

CDR을 함유하는 것으로 알려져 있다. 비인간 항체가 특별한 항원과 관련하여 제조되는 경우, 가변 도메인은 "재형성" 되거나 "인간화"될 수 있다. 항체의 인간화에서 일반적인 원칙은 항체의 에피토프 결합 부분의 기본 서열을 보유하지만, 항체의 비인간 나머지는 인간 항체 서열과 교환되는 것을 포함한다. 단클론성 항체를 인간화하는 데에는 4개의 일반적인 단계가 있다. 이것들은: (1) 출발 항체 경쇄 및 중쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 및 예측된 아미노산 서열을 측정하는 단계, (2) 인간화된 항체 또는 개과화된 항체를 설계하는 단계, 즉, 인간화 또는 개과화 과정 중에 사용되는 항체 프레임워크 영역을 결정하는 단계, (3) 실제 인간화 또는 개과화 방법/기법 및 (4) 인간화 항체의 형질주입 및 발현. 예를 들어, 미국 특허 제 4,816,567호; 5,807,715호; 5,866,692호; 및 6,331,415호 참고.

[0203] 설치류 또는 변형된 설치류 가변 도메인 및 인간 불변 도메인에 융합된 그것들의 관련 CDR을 가진 키메라 항체를 포함하여, 비인간 면역글로불린으로부터 유래된 에피토프 결합 부위를 포함하는 많은 인간화된 항체 분자가 기술되어 있다 (예를 들어, Lobuglio *et al.* (1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*", Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989) 참고). 다른 참고문헌은 적절한 인간 항체 불변 도메인과의 융합 전에 인간 지지 프레임워크 영역 (FR)에 그라프팅된 설치류 CDR을 기술한다 (예를 들어, Riechmann, L. *et al.* (1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*", Nature 332:323-327; 및 Jones *et al.* (1986) "*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse*", Nature 321:522-525 참고). 또 다른 참고문헌은 재조합적으로 덧붙여진 (veneered) 설치류 프레임워크 영역에 의해 지지된 설치류 CDR을 기술한다. 예를 들어, 유럽 특허 출원 공개 번호 519,596 참고. 이들 "인간화된" 분자는 인간 수령체에서 그 부분의 치료적 적용의 기간 및 유효성을 제한하는, 설치류 항-인간 항체 분자를 향한 원치 않는 면역학적 반응을 최소화하기 위해 설계된다. 또한 활용될 수 있는 항체를 인간화하는 다른 방법들이 문헌에 개시된다: Daugherty *et al.* (1991) "*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*", Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 및 미국 특허 제 6,180,377호; 6,054,297호; 및 5,997,867호. 일부 구체예에서, 인간화된 항체는 모든 CDR 서열을 보존한다 (예를 들어, 마우스 항체로부터의 전부 6개의 CDR을 함유하는 인간화된 마우스 항체). 다른 구체예에서, 인간화된 항체는 원래의 항체에 비해 서열이 상이한 하나 이상의 CDR (1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개)을 가진다.

[0204] **2. CD137 결합 도메인**

[0205] 본 발명은 CD137의 에피토프에 결합할 수 있는 **CD137 결합 분자**, 예컨대 단일특이적 항체, 및 그것의 에피토프 결합 단편을 포함하는 분자에 관한 것이다. 신규한 인간 단클론성 항체 "**CD137 MAB-6**"의 CD137 결합 도메인이 아래에 제공된다. 본 발명은 **CD137 결합 분자** 및 다중특이적 **CD137 결합 분자** (예컨대, 이중특이적 항체, 이중특이적 디아바디, BiTE, 3가 결합 분자, 등), 예컨대 아래에 제공된 **CD137 MAB-6**의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_Hs를 포함하는 **CD137 x TA** 결합 분자, 또는 그것의 변이체 중 어느 것을 구체적으로 포함하며 포괄한다.

[0206] **a) 인간 CD137 MAB-6**

[0207] **CD137 MAB-6**은 신규한 인간 단클론성 항체이다. **CD137 MAB-6 (CD137 MAB-6 VH1)**의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:46)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0208] QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS **SYYWSWIRQP** PGKGLEWIGR
IYTSGSTNYN PSLKSRVTMS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARDGW
YDEDYNYGM DVWGQGTTVT VSS

[0209] **CD137 MAB-6 VH1**의 CDR_H의 아미노산 서열은:

[0210] CDR_H1 (서열 번호:47): SYYWS

[0211] CDR_H2 (서열 번호:48): RIYTSGSTNYNPSLKS

[0212] CDR_H3 (서열 번호:49): DGWYDEDYNYGMVDV이다.

[0213] **CD137 MAB-6 (CD137 MAB-6 VL1)**의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:50)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
 QGTKVEIK

[0214]

[0215] CD137 MAB-6 VL1의 CDR_L의 아미노산 서열은:

[0216] CDR_{L1} (서열 번호:51): RASQSVSSNYLS

[0217] CDR_{L2} (서열 번호:52): GASTRAT

[0218] CDR_{L3} (서열 번호:53): QQDYDLPWT이다.

[0219] b) 탈면역화된 CD137 MAB-6

[0220] 아래의 실시예에서 기술되는 것과 같이, CD137 MAB-6의 VL 도메인은 탈면역화되어 서열 번호:54의 아미노산 서열을 갖는 "CD137 MAB-6 VLx"로 표시된 VL 도메인을 유발하였다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

EIVMTQSPAT LSLX₁PGERAT LSCRASQSVS SNYLSWX₂QQX₃ PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
 QGTKVEIK

[0221]

[0222] 여기서: X₁, X₂, 및 X₃은 독립적으로 선택되며,

[0223] X₁은 S 또는 T이고; X₂는 F 또는 Y이며; X₃은 I 또는 K이다.

[0224] 특정 구체예에서

[0225] a) X₁은 S이고; X₂는 Y이며; X₃은 K이거나; 또는

[0226] b) X₁은 S이고; X₂는 F이며; X₃은 K이다.

[0227] CD137 MAB-6 VL2, 및 CD137 MAB-6 VL3 으로 표시된 CD137 MAB-6 VL 도메인의 변이체의 아미노산 서열이 아래에 제공된다. 변이체 VL 도메인 중 어느 것이든지 VH 도메인과 쌍을 이룰 수 있다. CD137 MAB-6 VH/VL 도메인의 특별한 조합을 포함하는 분자는 구체적인 VH/VL 도메인을 참조로 하여 언급되며, 예를 들어, 결합 도메인 CD137 MAB-6 VH1 및 CD137 MAB-6 VL3을 포함하는 분자는 구체적으로 "CD137 MAB-6(1.3)"로서 언급된다.

[0228] 변이체 CD137 MAB-6 VL2의 아미노산 서열은 (서열 번호:55)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWYQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
 QGTKVEIK

[0229]

[0230] 변이체 CD137 MAB-6 VL3의 아미노산 서열은 (서열 번호:56)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
 QGTKVEIK

[0231]

[0232] 위에서 제공된 CD137 MAB-6 VL 도메인의 유전자 서열(들) 내에 포함된 어느 것이든지 포함하여, 그러한 완전한 인간, 및/또는 변이체 VH 및 VL CD137 MAB-6 도메인의 임의의 것의 CDR, VL 도메인, 및/또는 VH 도메인은 CD137에 결합할 수 있는 항체, 디아바디 또는 결합 분자를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 특정 구체예에서 CD137 x TA 결합 분자를 포함하여, 발명의 CD137 결합 분자는 CD137 MAB-6 VH1 및 CD137 MAB-6 VL3을 포함한다.

[0233] B. 이중특이적 항체, 다중특이적 디아바디 및 3가 분자

[0234] 위에서 나타난 것과 같이, 천연 항체는 단지 하나의 에피토프 종에 결합할 수 있지만, 그 종의 다중 복사물에 결합할 수 있다. 항원의 에피토프에 결합하는 항체의 능력은 항체의 VL 및 VH 도메인의 존재 및 아미노산 서열에 좌우된다. 항체의 경쇄와 중쇄의 상호작용 및, 특히, 그것의 VL과 VH 도메인의 상호작용은 천연 항체, 예컨대 IgG의 2개의 에피토프 결합 도메인 중 하나를 형성한다. 천연 항체는 단지 하나의 에피토프 종에 결합할 수

있지만 (즉, 그것은 단일 특이적임), 그 중의 다중 복사물에 결합할 수 있다 (즉, 이가 또는 다가를 나타냄).

- [0235] 항체의 기능성은 동시에 2개의 별도의 구별되는 항원 (또는 동일한 항원의 상이한 에피토프)에 결합할 수 있는 다중특이적 항체 기반 분자를 생성함으로써 및/또는 동일한 에피토프 및/또는 항원에 대해 높은 결합가 (즉, 2 개 이상의 결합 도메인)를 갖는 항체 기반 분자를 생성함으로써 향상될 수 있다.
- [0236] 천연 항체보다 더 큰 용량을 갖는 분자를 제공하기 위하여, 광범위한 제조함 이중특이적 항체 방식이 그러한 이중특이적 항체를 생성하기 위해 개발되었다.
- [0237] 대부분의 그러한 접근법은 추가의 결합 도메인 (예컨대 scFv, VL, VH, 등)을 항체 코어(IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM)에, 또는 항체 코어 내에 융합시키기 위해, 또는 다중 항체 결합 부분을 서로 (예컨대 2개의 Fab 단편 또는 scFv)에게 융합시키기 위하여 링커 펩타이드를 사용한다. 대체 방식은 결합 단백질 (예컨대, scFv, VL, VH, 등)을 CH2-CH3 도메인과 같은 다이머화 도메인 또는 대체 폴리펩타이드에 융합시키기 위하여 링커 펩타이드를 사용한다 (WO 2005/070966, WO 2006/107786A WO 2006/107617A, WO 2007/046893). PCT 공개 번호 WO 2013/174873, WO 2011/133886 및 WO 2010/136172에는 CL 및 CH1 도메인이 그것의 각각의 천연 위치로부터 전환되어 있는 다중특이적 항체가 개시되며, WO 2008/027236; 및 WO 2010/108127에는 VL 및 VH 도메인이 하나 이상의 항원에 결합하는 것이 허용되도록 다양화되어 있는 항체가 개시된다. PCT 공개 번호 WO 2010/028797, WO2010028796 및 WO 2010/028795에는 Fc 영역이 추가의 VL 및 VH 도메인으로 대체되어서, 3가 결합 분자를 형성하는 제조함 항체가 개시된다. PCT 공개 번호 WO 2003/025018 및 WO 2003/012069에는 개별 사슬이 scFv 도메인을 함유하는 제조함 디아바디가 개시된다. PCT 공개 번호 WO 2013/006544에는 단일 폴리펩타이드 사슬로서 합성된 후 단백질 가수분해되어 헤테로다이머 구조를 유발하는 다가 Fab 분자가 개시된다. 그러므로, 이들 문헌에 개시된 분자는 추가의 항원 중에 결합하는 능력에 대해 이펙터 기능을 매개하는 능력의 전부 또는 일부를 교환한다. PCT 공개 번호 WO 2014/022540, WO 2013/003652, WO 2012/162583, WO 2012/156430, WO 2011/086091, WO 2008/024188, WO 2007/024715, WO 2007/075270, WO 1998/002463, WO 1992/022583 및 WO 1991/003493은 추가적인 결합 도메인 또는 작용기를 항체 또는 항체 부분에 첨가하는 것 (예컨대, 디아바디를 항체의 경쇄에 첨가하거나, 또는 추가적인 VL 및 VH 도메인을 항체의 경쇄 및 중쇄에 첨가하거나, 또는 이중성 융합 단백질을 첨가하거나 또는 다중 Fab 도메인을 서로 연결시키는 것)을 개시한다.
- [0238] 기술분야에는 둘 이상의 상이한 에피토프 중을 결합시킬 수 있는 점에서 천연 항체와 상이한 **디아바디**를 생성하는 (즉, 이가 또는 다가 외에 이중특이성 또는 다중특이성을 나타내는) 능력이 추가적으로 언급되었다 (예컨대, Holliger *et al.* (1993) "'Diabodies': Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments", Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 90:6444-6448; US 2004/0058400 (Hollinger *et al.*); US 2004/0220388 (Mertens *et al.*); Alt *et al.* (1999) FEBS Lett. 454(1-2):90-94; Lu, D. *et al.* (2005) "A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity", J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672; Olafsen, T. *et al.* (2004) "Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications", Protein Eng Des Sel. 17(1):21-27; Baeuerle, P.A. *et al.* (2009) "Bispecific T cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy", Cancer Res. 69(12):4941-4944 참고).
- [0239] 비-단일특이적 "**디아바디**"의 제공은 항체보다 나은 상당한 장점: 상이한 에피토프를 발현하는 세포를 공동 결합하고 공동 국지화하는 능력을 제공한다. 그러므로 이중특이적 디아바디는 치료법 및 면역진단을 포함하여 광범위한 적용을 가진다. 이중특이성은 다양한 적용에서 디아바디의 설계 및 조작에 대단한 유연성을 허용하여 다가 항원에 대한 향상된 결합력, 상이한 항원의 교차 결합, 및 두 표적 항원의 존재에 의존하는 특정 세포 유형에 대해 지시된 표적화를 제공한다.
- [0240] 그러한 비-단일특이적 디아바디의 형성은 둘 이상의 구별되고 상이한 폴리펩타이드의 성공적인 조립을 필요로 한다 (즉, 그러한 형성은 디아바디가 상이한 폴리펩타이드 사슬 중의 헤테로다이머화를 통해 형성되는 것을 필요로 한다). 이런 도전에 직면하여, 기술분야에서는 안정적인, 공유 결합된 헤테로다이머 비-단일특이적 디아바디의 개발에 성공하였다 (예컨대, Chichili, G.R. *et al.* (2015) "A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates", Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82; Veri, M.C. *et al.* (2010) "Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcγ Receptor IIB (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold", Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943; Moore, P.A. *et al.* (2011) "Application Of Dual

Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell Lymphoma", Blood 117(17):4542-4551; 미국 특허 출원 공개 번호 2007/0004909; 2009/0060910; 2010/0174053; 20130295121; 2014/0099318; 2015/0175697; 2016/0017038; 2016/0194396; 2016/0200827; 및 2017/0247452 참고). 그러한 디아바디는 둘 이상의 공유 복합체 형성된 폴리펩타이드를 포함하며 하나 이상의 시스테인 잔기를 사용된 폴리펩타이드 중의 각각에 조작하는 것을 포함한다. 예를 들어, 그러한 구성물의 C-말단에 시스테인 잔기의 첨가는 폴리펩타이드 사슬 사이에 이황화 결합을 허용하여, 결과적으로 생성된 헤테로다이머를 이가 분자의 결합 특징을 간섭하지 않으면서 안정화시킨다.

[0241] **C. 본 발명의 대표적인 CD137 x TA 결합 분자의 구성요소**

[0242] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 폴리펩타이드로 구성되며, 2, 3, 4개 또는 4개 이상의 폴리펩타이드 사슬로 구성될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "**구성되는**"은 개방형으로 의도되어, 2개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**가 추가적인 폴리펩타이드 사슬을 가질 수 있게 된다. 그러한 사슬은 결합 분자의 또 다른 폴리펩타이드 사슬과 같은 서열을 가지거나, 또는 결합 분자의 임의의 다른 폴리펩타이드 사슬로부터의 서열과 상이할 수 있다.

[0243] **1. 대표적인 "링커" 펩타이드**

[0244] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 폴리펩타이드는 "링커" 펩타이드, 예컨대 **링커 1**, **링커 2**, **링커 3**, 등이 선행하거나, 뒤따르거나, 및/또는 그것에 의해 서로 연결되는 도메인을 포함한다. 비록 발명이 특정한 구체적 "링커" 펩타이드를 이용하지만, 본원에 제공된 교시의 측면에서, **CD137 x TA 결합 분자**를 이루기 위하여 대체 링커가 쉽게 확인되고 사용될 수 있다.

[0245] 폴리펩타이드 사슬의 VL 및 VH 도메인을 분리시키는 **링커 1**의 길이는 그러한 VL 및 VH 도메인이 서로에게 결합하는 것을 실질적으로 또는 완전하게 방지하도록 선택된다 (예컨대, 12개 이하의 아미노산 잔기의 길이임). 그러므로, 제1 폴리펩타이드 사슬의 **VL1** 및 **VH2** 도메인은 서로에게 실질적으로 또는 완전하게 결합할 수 없고, 제1 또는 제2 항원 중 어느 하나에 실질적으로 결합할 수 있는 에피토프 결합 부위를 형성하지 못한다. 마찬가지로, 제2 폴리펩타이드 사슬의 **VL2** 및 **VH1** 도메인은 서로에게 실질적으로 또는 완전하게 결합할 수 없고, 제1 또는 제2 항원 중 어느 하나에 실질적으로 결합할 수 있는 에피토프 결합 부위를 형성하지 못한다. 대표적인 개재 링커 펩타이드 (**링커 1**)는 아미노산 서열 (**서열 번호:16**): GGGSGGGG를 가지며, 그것은 동일한 폴리펩타이드 사슬의 VL 및 VH 도메인이 함께 복합체를 형성하는 것을 허용하기에는 너무 짧다 (scFv 분자를 생성하기 위해 사용되는 더 긴 개재 링커 펩타이드 (예컨대, GGGSGGGGSGGGGS (**서열 번호:17**))와는 대조적임).

[0246] **링커 2**의 한 가지 목적은 폴리펩타이드 사슬의 VH 도메인을 그 폴리펩타이드 사슬의 선택적으로 존재하는 헤테로다이머 촉진 도메인과 분리하는 것이다. 다양한 링커 중 어느 것이든지 **링커 2**의 목적을 위해 사용될 수 있다. 그러한 **링커 2**에 대한 대표적인 서열은 아미노산 서열: GGCGGG (**서열 번호:18**)를 포함하며, 이황화 결합, 또는 IgG CH1 도메인으로부터 유래되는 ASTKG (**서열 번호:19**)를 통해 서로에게 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬을 공유 결합시키기 위해 사용될 수 있는 시스테인 잔기를 가진다. **링커 2**, ASTKG (**서열 번호:19**)는 그러한 시스테인을 갖지 않기 때문에, 그러한 **링커 2**의 사용은 전형적으로 시스테인 함유 헤테로다이머 촉진 도메인, 예컨대 **서열 번호:39**의 E-코일 또는 **서열 번호:40**의 K-코일의 사용과 관련된다 (하기 참조).

[0247] **링커 3**의 한 가지 목적은 폴리펩타이드 사슬의 헤테로다이머 촉진 도메인을 그 폴리펩타이드 사슬의 Fc 도메인으로부터 분리하는 것이다. 두 번째 목적은 시스테인 함유 폴리펩타이드 도메인을 제공하는 것이다. 다양한 링커 중 어느 것이든지 **링커 3**의 목적을 위해 사용될 수 있다. 그러한 **링커 3**에 대한 대표적인 서열은 아미노산 서열: DKTHTCPPCP (**서열 번호:20**)를 포함한다. **링커 3**에 대한 또 다른 대표적인 서열은 아미노산 서열: GGGDKTHTCPPCP (**서열 번호:21**)를 포함한다. **링커 3**에 대한 또 다른 대표적인 서열은 아미노산 서열: LEPKSADKHTCPPCP (**서열 번호:30**), 또는 LEPKSSDKTHTCPPCP (**서열 번호:31**)를 포함한다.

[0248] **링커 4**의 한 가지 목적은 Fc 영역 ("**Fc 도메인**")의 C-말단을 VL 도메인의 N-말단의 CH2-CH3 도메인으로부터 분리하는 것이다. 다양한 링커 중 어느 것이든지 **링커 4**의 목적을 위해 사용될 수 있다. 그러한 **링커 4**에 대한 대표적인 서열은 아미노산 서열: APSSS (**서열 번호:22**) 또는 아미노산 서열 APSSSPME (**서열 번호:23**), 아미노산 서열 GGGSGGGSGGG (**서열 번호:24**), 또는 아미노산 서열 GGGSGGGSGGG (**서열 번호:25**)를 포함한다.

[0249] 본 발명의 Fc 영역 함유 분자는 추가적인 개재 링커 펩타이드 (링커)를 포함할 수 있고, 일반적으로 그러한 링커는 헤테로다이머 촉진 도메인 (예컨대, E-코일 또는 K-코일)과 CH2-CH3 도메인 사이 및/또는 CH2-CH3 도메인과 가변 도메인 (즉, VH 또는 VL) 사이에 포함될 것이다. 전형적으로, 추가적인 링커는 3-20개 아미노산 잔기를

포함할 것이며 선택적으로 IgG 힌지 영역의 전부 또는 일부 (바람직하게 IgG 힌지 영역의 시스테인 함유 부분)를 함유할 수 있다. 본 발명의 이중특이적 Fc 영역 함유 디아바디 분자에 사용될 수 있는 링커로는: GGC, GGG, ASTKG (서열 번호:19), DKHTCPCPCP (서열 번호:20), APSSS (서열 번호:22), APSSSPME (서열 번호:23), GGGSGGGSGGG (서열 번호:24), GGGSGGGSGGG (서열 번호:25), LGGGSG (서열 번호:26), GGG (서열 번호:27), LEPKSS (서열 번호:28), VEPKSADKHTCPCPCP (서열 번호:29), LEPKSADKHTCPCPCP (서열 번호:30), 및 LEPKSSDKHTCPCPCP (서열 번호:31)를 들 수 있다. LEPKSS (서열 번호:28)는 클로닝을 쉽게 하기 위해 GGG 또는 GGC 대신 사용될 수 있다. 추가적으로, 아미노산 GGG, 또는 LEPKSS (서열 번호:28)는 대체 링커: GGGDKHTCPCPCP (서열 번호:21); 및 LEPKSSDKHTCPCPCP (서열 번호:31)를 형성하기 위해 DKHTCPCPCP (서열 번호:20)가 즉시 뒤따를 수 있다. 본 발명의 이중특이적 Fc 영역 함유 분자는 IgG 힌지 영역, 예컨대 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체의 IgG 힌지 영역, 또는 그것의 일부를 통합할 수 있다.

[0250] 2. 대표적인 헤테로다이머 촉진 도메인

[0251] 위에서 나타난 것과 같이, 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자의 형성은 둘 이상의 상이한 폴리펩타이드 사슬의 조립 (즉, 헤테로다이머화)을 포함한다. 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬의 헤테로다이머의 형성은 "헤테로다이머 촉진 도메인"의 포함에 의해 유도될 수 있다. 헤테로다이머 촉진 도메인은 IgG의 힌지 영역의 도메인 (또는 힌지 영역으로부터 유래된 폴리펩타이드, 예컨대, 예를 들어, GVEPKSC (서열 번호:32), VEPKSC (서열 번호:33)) 또는 한 폴리펩타이드 사슬 상의 AEPKSC (서열 번호:34)), 및 다른 폴리펩타이드 사슬 상의 CL 도메인 (또는 aCL 도메인으로부터 유래된 폴리펩타이드, 예컨대, 예를 들어, GFNRGEC (서열 번호:35) 또는 FNRGEC (서열 번호:36)) (US2007/0004909)일 수 있다.

[0252] 대안으로, 본 발명의 헤테로다이머 촉진 도메인은 반대 전하의 나란히 반복된 코일 도메인, 예를 들어 글루타민 잔기가 pH 7에서 음전하를 형성할 "E-코일" 나선형 도메인 (서열 번호:37: EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)을 포함할 것이고, 한편 다른 헤테로다이머 촉진 도메인은 리신 잔기가 pH 7에서 양전하를 형성할 4개의 탠덤 "K-코일" 도메인 (서열 번호:38: KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)을 포함할 것이다. 그러한 대전된 도메인의 존재는 제1 및 제2 폴리펩타이드 사이의 회합을 촉진하고, 그로써 헤테로다이머화를 촉진한다. 또 다른 구체예에서, 서열 번호:37의 4개의 탠덤 "E-코일" 나선형 도메인 중 하나가 시스테인 잔기를 함유하도록 변형되어 있는 헤테로다이머 촉진 도메인: EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39)이 이용된다. 마찬가지로, 또 다른 구체예에서, 서열 번호:38의 4개의 탠덤 "K-코일" 나선형 도메인 중 하나가 시스테인 잔기를 함유하도록 변형되어 있는 헤테로다이머 촉진 도메인: KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40)이 이용된다.

[0253] 3. 폴리펩타이드 사슬의 공유 결합

[0254] 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 그것의 폴리펩타이드 사슬의 쌍이 그것의 길이를 따라 위치한 하나 이상의 시스테인 잔기를 통해 서로 결합하여 공유 결합된 분자 복합체를 생성하도록 조작된다. 그러한 시스테인 잔기는 폴리펩타이드의 VL 및 VH 도메인을 분리시키는 개재 링커에 도입될 수 있다. 선택적으로, 또는 대안으로, 링커 2 또는 링커 3, 또는 대체 링커는 시스테인 잔기를 함유할 수 있다. 선택적으로 또는 대안으로, 코일 함유 헤테로다이머 촉진 도메인의 하나 이상의 코일 도메인은 서열 번호:39 또는 서열 번호:40에서와 같이 시스테인 잔기를 통합시키는 아미노산 치환을 포함할 것이다.

[0255] 4. 대표적인 Fc 도메인

[0256] 본 발명의 Fc 함유 CD137 x TA 결합 분자의 Fc 도메인은 완전한 Fc 영역 (예컨대, 완전한 IgG Fc 영역) 또는 완전한 Fc 영역의 단편만을 포함할 수 있다. 본 발명의 Fc 함유 CD137 x TA 결합 분자의 Fc 도메인은 그러므로 완전한 Fc 영역의 CH2 도메인의 일부 또는 전부 및/또는 CH3 도메인의 일부 또는 전부를 포함하거나, 또는 변이체 CH2 및/또는 변이체 CH3 서열 (예를 들어, 완전한 Fc 영역의 CH2 또는 CH3 도메인과 관련하여 하나 이상의 삽입 및/또는 하나 이상의 결실을 포함할 수 있음)을 포함할 수 있다. 본 발명의 이중특이적 Fc 디아바디의 Fc 도메인은 비-Fc 폴리펩타이드 부분을 포함하거나, 또는 비-자연적으로 완전한 Fc 영역의 부분을 포함하거나, 또는 자연적으로 발생하지 않는 방향의 CH2 및/또는 CH3 도메인 (예컨대, 예를 들어, 2개의 CH2 도메인 또는 2개의 CH3 도메인, 또는 N-말단에서 C-말단 방향으로, CH2 도메인에 연결된 CH3 도메인, 등)을 포함할 수 있다.

[0257] 비록 본 발명의 Fc 함유 CD137 x TA 결합 분자의 Fc 도메인이 자연적으로 발생하는 Fc 도메인의 아미노산 서열을 포함할 수 있긴 하지만, 그러한 Fc 도메인을 형성하는 CH2-CH3 도메인이 하나 이상의 치환을 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 Fc 도메인은 결과적으로 생성된 Fc 도메인이 Fc γ RIA (CD64), Fc γ RIIA (CD32A), Fc

γ R11B (CD32B), Fc γ R11A (CD16a) 또는 Fc γ R11B (CD16b)에 대하여 (야생형 Fc 영역에 의해 나타난 결합에 비해) 감소된 (예컨대, Fc 도메인이 자연적으로 발생하는 Fc 영역의 아미노산 서열을 가진다면 그러한 분자에 의해 나타난 50% 미만, 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 또는 10% 미만의 결합), 또는 실질적으로 검출할 수 없는 결합을 나타내도록 하나 이상의 치환을 포함하도록 형성하는 것이 바람직할 수 있다. 그러한 변경된 결합을 매개할 수 있는 Fc 변이체 및 돌연변이 형태는 기술분야에 잘 알려져 있고 234, 235, 265, 및 297로 이루어지는 군으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함하며, 상기 넘버링은 Kabat에서의 EU 인덱스의 넘버링이다 (예를 들어, 미국 특허 제 5,624,821호 참고). 한 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 분자의 제1 및/또는 제3 폴리펩타이드 사슬의 CH2-CH3 도메인은 치환: L234A, L235A, D265A, N297Q, 및 N297G 중 임의의 1, 2, 3, 또는 4개의 치환을 포함한다. 대안으로, 본질적으로 Fc γ R11A (CD16a)에 대해 감소된 (또는 실질적으로는 없는) 결합 및/또는 감소된 이펙터 기능을 나타내는 (야생형 IgG1 Fc 영역 (서열 번호:12)에 의해 나타난 결합 및 이펙터 기능에 비해) 자연적으로 발생하는 Fc 영역의 CH2-CH3 도메인이 사용된다. 특정 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 분자는 IgG2 Fc 영역 (서열 번호:13) 또는 IgG4 Fc 영역 (서열 번호:15)을 포함한다. IgG4 Fc 영역이 사용되는 경우, 본 발명은 또한 안정화 돌연변이, 예컨대 위에서 기술된 힌지 영역 S228P 치환의 도입을 포함한다 (예컨대, 서열 번호:11 참고).

[0258] 대표적인 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 **CD137 x TA 결합 분자**의 사용된 IgG1 CH2-CH3 도메인은 위치 234에서 알라닌으로의 치환 및 235에서 알라닌으로의 치환을 포함하고, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서의 EU 인덱스의 넘버링이다 (서열 번호:41):

```
APEAAAGGPSV FLFPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYF LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

[0259]

여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0260]

Fc 영역을 포함하는 단백질의 혈청 반감기는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합 친화도를 증가시킴으로써 증가될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "반감기"는 투여 후 분자의 평균 생존 시간의 척도인, 분자의 약동학적 특성을 의미한다. 반감기는 대상체의 신체 (예컨대, 인간 환자 또는 다른 포유동물) 또는 그것의 특정 구획으로부터, 예를 들어, 혈청, 또는 다른 조직에서 측정되는 바, 즉, 순환하는 반감기로서, 분자의 공지된 양의 50 퍼센트 (50%)를 제거하기 위해 필요한 시간으로서 표시될 수 있다. 일반적으로, 반감기의 증가는 투여된 분자의 순환에서의 평균 체류 시간 (MRT)의 증가를 초래한다.

[0261]

[0262] 일부 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 **CD137 x TA 결합 분자**는 변이 Fc 영역을 포함하며, 상기 변이 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하여서, 상기 분자는 (야생형 Fc 영역을 포함하는 분자에 비해) 증가된 반감기를 가지게 된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 **CD137 x TA 결합 분자**는 변이체 IgG Fc 영역을 포함하며, 상기 변이 Fc 영역은 반감기 연장 아미노산 치환을 포함한다. Fc 함유 분자의 반감기를 증가시킬 수 있는 수많은 아미노산 치환이 기술분야에 알려져 있고 예를 들어 미국 특허 제 6,277,375호, 7,083,784호; 7,217,797호, 8,088,376호; 미국 특허 출원 공개 번호 2002/0147311; 2007/0148164; 및 2011/0081347에서 기재된 아미노산 치환을 참고한다. 향상된 반감기를 갖는 Fc 함유 **CD137 x TA 결합 분자**는 T250Q, M252Y, S254T, T256E, K288D, T307Q, V308P, A378V, M428L, N434A, H435K, 및 Y436I로부터 선택된 둘 이상의 치환을 포함할 수 있으며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다.

[0262]

특히, 사용된 CH2-CH3 도메인은 다음 치환을 포함할 수 있다:

[0263]

(A) M252Y, S254T 및 T256E;

[0264]

(B) M252Y 및 S254T;

[0265]

(C) M252Y 및 T256E;

[0266]

(D) T250Q 및 M428L;

[0267]

(E) T307Q 및 N434A;

[0268]

(F) A378V 및 N434A;

[0269]

[0270] (G) N434A 및 Y436I;

[0271] (H) V308P 및 N434A;

[0272] (I) K288D 및 H435K; 또는

[0273] (J) M428L 및 N434S,

[0274] 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다.

[0275] CH2 및 CH3 도메인에 대한 대표적인 서열은 IgG1 CH2-CH3 도메인의 변이체인 **서열 번호:42** 또는 **서열 번호:43**에 서와 같이, 또는 IgG4 CH2-CH3 도메인의 변이체인 **서열 번호:44**에서와 같이, 혈청 반감기를 상당히 향상시키는 삼중 아미노산 치환: M252Y/S254T/T256E (YTE)을 포함한다 (Dall'Acqua, W.F. *et al.* (2006) "*Properties of Human IgGs Engineered for Enhanced Binding to the Neonatal Fc Receptor (FcRn)*", J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524):

[0276] **서열 번호:42:**

```

APELLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0277]

[0278] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0279] **서열 번호:43:**

```

APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME
ALHNHYTQKS LSLSPGX
    
```

[0280]

[0281] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0282] **서열 번호:44:**

```

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME
ALHNHYTQKS LSLSLGX
    
```

[0283]

[0284] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0285] 발명은 또한 NK 의존성 또는 대식세포 의존성 검정, 등에서 검정되는 바 변경된 이펙터 기능, 변경된 혈청 반감기, 변경된 안정성, 변경된 세포 효소에 대한 민감성 또는 변경된 이펙터 기능을 나타내는 변이 Fc 도메인을 포함하는 Fc 함유 **CD137 x TA 결합 분자**를 포괄한다. 활성화 수용체 (예컨대, FcγRIIA (CD16A))에 대한 결합을 증가시키고 억제 수용체 (예컨대, FcγRIIB (CD32B))에 대한 결합을 감소시키는 변형을 포함하여, 이펙터 기능을 변경시키는 것으로 확인된 Fc 도메인 변형은 기술분야에 알려져 있다 (예컨대, Stavenhagen, J.B. *et al.* (2007) "*Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcγ Receptors*", Cancer Res. 57(18):8882-8890 참고). CD32BF에 대해 감소된 결합 및/또는 CD16A에 대해 증가된 결합을 가진 인간 IgG1 Fc 도메인의 대표적인 변이체는 L235V, F243L, R292P, Y300L, V305I 또는 P296L 치환을 함유한다. 이들 아미노산 치환은 인간 IgG1 Fc 도메인에 임의의 조합으로 존재할 수 있다. 한 구체예에서, 인간 IgG1 Fc 도메인 변이체는 F243L, R292P 및 Y300L 치환을 함유하며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 또 다른 구체예에서, 인간 IgG1 Fc 도메인 변이체는 F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P296L 치환을 함유하며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 또 다른 구체예에서, 인간 IgG1 Fc 도메인 변이체는 L235V, F243L, R292P, Y300L 및 P396L 치환을 함유하며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스

의 넘버링이다.

[0286] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 CH2 및/또는 CH3 도메인은 서열이 동일할 필요는 없으며, 유리하게 2개의 CH2-CH3 함유 폴리펩타이드 사슬 사이의 헤테로다이머화를 촉진하도록 변형된다. 예를 들어, 입체적인 간섭이 유사하게 돌연변이된 도메인과의 상호작용을 방지하고 돌연변이된 도메인이 상보하는 도메인과 쌍을 이루도록 강제할 수 있도록 아미노산 치환 (바람직하게 "**손잡이(knob)**")를 형성하는 벌키 측쇄를 포함하는 아미노산, 예컨대, 트립토판으로의 치환)이 CH2 또는 CH3 도메인에 도입되거나, 또는 수용적인 돌연변이, 즉, "**구멍(hole)**"이 조작되었다 (예컨대, 글리신으로의 치환). 그러한 돌연변이 세트는 이중특이적 Fc 함유 디아바디 분자를 포함하는 폴리펩타이드의 임의의 쌍으로 조작될 수 있고, 추가로 상기 쌍의 폴리펩타이드 사슬의 임의의 부분으로 조작될 수 있다. 호모다이머화보다 헤테로다이머화를 선호하는, 특히 면역글로불린 유사 분자의 조작과 관련하여 단백질 조작하는 방법은 기술분야에 잘 알려져 있고, 본원에 포함된다 (예컨대, Ridgway *et al.* (1996) "*Knobs-Into-Holes' Engineering Of Antibody CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization,*" *Protein Engr.* 9:617-621, Atwell *et al.* (1997) "*Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,*" *J. Mol. Biol.* 270: 26-35, 및 Xie *et al.* (2005) "*A New Format Of Bispecific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,*" *J. Immunol. Methods* 296:95-101 참고; 이들 문헌의 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 한 구체예에서, 손잡이는 제1 폴리펩타이드 사슬의 CH2-CH3 도메인 안으로 조작되고 구멍은 제3 폴리펩타이드 사슬의 CH2-CH3 도메인 안으로 조작된다. 그러므로, 손잡이는 제1 폴리펩타이드 사슬의 2개의 분자가 그것의 CH2 및/또는 CH3 도메인을 통해 호모다이머화하는 것을 방지하는 것을 도울 것이다. 이 구체예의 제3 폴리펩타이드 사슬이 구멍 치환을 함유하기 때문에 자체적인 호모다이머화뿐만 아니라 제1 폴리펩타이드 사슬과 헤테로다이머화하는 능력을 가질 것이다 (그러나, 그러한 호모다이머화는 에피토프 결합 부위를 갖는 분자를 형성하지 못한다). 대표적인 손잡이는 천연 IgG Fc 도메인을 변형 T366W를 함유하도록 변형시킴으로써 생성되며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 대표적인 구멍은 천연 IgG Fc 도메인을 변형 T366S, L368A 및 Y407V를 함유하도록 변형시킴으로써 생성되며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 헤테로다이머를 포함하는 최종 이중특이적 Fc 함유 디아바디로부터 제3 폴리펩타이드 사슬 호모다이머를 정제하는 것을 돕기 위하여, 제3 폴리펩타이드 사슬의 CH2 및 CH3 도메인의 단백질 A 결합 부위가 바람직하게 위치 435에서 아미노산 치환 (H435R)에 의해 돌연변이되며, 여기서 상기 넘버링은 Kabat에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 그러므로, 제3 폴리펩타이드 사슬 호모다이머는 단백질 A에 결합하지 못할 것인 반면, 적절하게 조립된 이중특이적 Fc 함유 디아바디는 제1 폴리펩타이드 사슬 상의 단백질 A 결합 부위를 통해 단백질 A와 결합하는 능력을 유지할 것이다.

[0287] 서열 번호:45, 서열 번호:146 및 서열 번호:147은 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**에 사용될 수 있는 "손잡이 함유" CH2 및 CH3 도메인에 대한 대표적인 서열을 제공한다:

[0288] 서열 번호:45:

```
APEAAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

[0289]

여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없고,

[0291] 서열 번호:146:

```
APEAAAGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

[0292]

여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없으며,

[0293]

[0294] 서열 번호:147:

```
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLGX
```

[0295]

[0296] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0297] 서열 번호:148 , 서열 번호:149 및 서열 번호:150은 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자에 사용될 수 있는 "구멍 함유" CH2 및 CH3 도메인에 대한 대표적인 서열을 제공한다:

[0298] 서열 번호:148:

```
APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNRYTQKS LSLSPGX
```

[0299]

[0300] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0301] 서열 번호:149:

```
APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNRYTQKS LSLSPGX
```

[0302]

[0303] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0304] 서열 번호:150:

```
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLVSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNRYTQKS LSLSLGX
```

[0305]

[0306] 여기서, X는 리신 (K)이거나 또는 없다.

[0307] 주지하게 되는 바와 같이, 서열 번호:47 및 50의 CH2-CH3 도메인은 IgG4 도메인인 한편, 서열 번호:45, 146, 148 및 149의 CH2-CH3 도메인은 IgG4 도메인이다. 서열 번호:45, 146, 148 및 149는 위치 234에서 알라닌으로의 치환 및 235에서 알라닌으로의 치환을 포함하며, 그로써 (야생형 Fc 영역 (서열 번호:12)에 의해 나타난 결합에 비해) Fc γ RIA (CD64), Fc γ RIIA (CD32A), Fc γ RIIB (CD32B), Fc γ RIIIA (CD16a) 또는 Fc γ RIIIB (CD16b)에 대해 감소된 (또는 실질적으로는 없는) 결합을 나타내는 Fc 도메인을 형성한다. 본 발명은 구체적으로 본원에 기술된 치환 (예컨대, M252Y/S254T/T256E; T366W; T366S/L368A/Y407V; 및/또는 H435R)을 포함하는 인간 IgG의 임의의 부류로부터의 CH2-CH3 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자를 포괄한다. 나아가, 본 발명은 구체적으로 상기 표시된 C-말단 리신 잔기가 없는 CD137 x TA 결합 분자 구성물을 포괄한다.

[0308] 위에서 기술된 구체예에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 "손잡이 함유" CH2-CH3 서열, 예컨대 서열 번호:45, 146, 및 147의 서열을 가질 것이고 제3 폴리펩타이드 사슬은 "구멍 함유" CH2-CH3 서열, 예컨대 서열 번호: 148, 149, 및 150의 서열을 가질 것이다. 그러나, 인지하게 되는 바, "구멍 함유" CH2-CH3 도메인 (예컨대, 서열 번호:48)은 제1 폴리펩타이드 사슬에 사용될 수 있을 것이고, 그 경우에, "손잡이 함유" CH2-CH3 도메인 (예컨대, 서열 번호:45)은 제3 폴리펩타이드 사슬에 사용될 수 있을 것이다.

[0309] 5. 대표적인 중양 항원 (TA) 및 대표적인 가변 도메인

[0310] 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 중양 항원의 에피토프에 특이적인 적어도 하나의 에피토프 결합 부위를 포함

한다. 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자에 의해 결합될 수 있는 대표적인 종양 항원 ("TA")으로는, 한정하는 것은 아니지만 표 1에 제시된 것들을 들 수 있고, 그것들은 본원에서 일반 명칭, 짧은 명칭, 및/또는 유전자 명칭으로 언급될 수 있다.

표 1

[0311]

대표적인 종양 항원		
단백질 종양 항원	유전자 명칭(들)	예컨대 UniProtKB ID 번호 참고
알파-N-아세틸갈락토사미나이드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라제 6	ST6GALNAC6; CA19-9	Q969X2
5,6-다이하이드록시인돌-2-카르복실산 산화효소	TYRP1; gp75	P17643
활성화된 백혈구 세포 부착 분자	ALCAM; CD166	Q13740
알파-1,4-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제	A4GNT	Q9UNA3
B 흑색종 항원 1	BAGE; CT2.1	Q13072
바시긴(Basigin)	BSG; CD147	P35613
B 세포 항원 수용체 복합체 결합 단백질 알파 사슬	CD79A	P11912
B 세포 항원 수용체 복합체 결합 단백질 베타 사슬	CD79B	P40259
B 세포 수용체 CD22	BL-CAM; CD22	P20273
B 림프구 항원 CD19	CD19	P15391
B 림프구 항원 CD20	MS4A1; CD20	P11836
골수 기질 항원 2	BST2; CD317	Q10589
캠퍼스(Campath)-1 항원	CD52	P31358
탄산 탈수효소 14	CA14	Q9ULX7
카르복시펩티다제 M	CPM	P14384
암배아 항원 관련 세포 부착 분자 5	CEACAM5; CD66e	P06731
암배아 항원 관련 세포 부착 분자 6	CEACAM6; CD66c	P40199
카테닌 베타-1	CTNNB1; 베타-카테닌	P35222
CD27 항원	CD27	P26842
CD276 항원	CD276; B7-H3	Q5ZPR3
CD40 리간드	CD40LG; CD154	P29965
세포 표면 A33 항원	GPA33	Q99795
콘드로이틴 설페이트 프로테오글리칸 4	CSPG4	Q6UVK1
C형 렉틴 도메인 패밀리를 구성원 4 C	CLEC4C; BDCA2; CD303	Q8WTT0
사이클린 의존성 키나제 4	CDK4	P11802
세포독성 T 림프구 단백질 4	CTLA4	P16410
디인테그린 및 메탈로프로테이나제 도메인 함유 단백질 9	ADAM-9	Q13443
에프린 A형 수용체 2	EPHA2	P29317
표피 성장 인자 수용체	EGFR; ERBB1; HER1	P00533
상피 세포 부착 분자	EPCAM; CD326	P16422
G 항원 1	GAGE1; CT4.1	Q13065
G 항원 2A	GAGE2A	Q6NT46
G 항원 2B/C	GAGE2B	Q13066
G 항원 2D	GAGE2D	Q9UEU5
G 항원 2E	GAGE2E	Q4V326
G2/유사분열-특이적 사이클린-B1	CCNB1	P14635
GDP-L-푸코스 생성효소	TSTA3	Q13630
글루타메이트 카르복시펩티다제 2	FOLH1; PSMA	Q04609
히알루로니다제-2	HYLA2; LUCA2	Q12891
비활성 티로신-단백질 키나제 경막 수용체 ROR1	ROR1, NTRKR1	Q01973
인테그린 알파-E	ITGAE; CD103	P38570
인테그린 베타-6	ITGB6	P18564
인터류킨-13 수용체 하위유닛 알파-2 (CD123의 하위유닛, 인터류킨-3 수용체)	IL13RA2; CD213a2	Q14627
인터류킨-2 수용체 하위유닛 알파	IL2RA; CD25	P01589
접합부 부착 분자 C	JAM3	Q9BX67
케라틴, 유형 II 세포골격 8	CK-8; KRT8	P05787
락타데린	MFGE8	Q08431

저친화도 면역글로불린 엡실론 Fc 수용체	FCER2; CD23	P06734
멜라닌 세포 단백질 PMEL	PMEL; gp100	P40967
T 세포 1에 의해 인식된 흑색종 항원	MLANA; MART1	Q16655
흑색종-관련 항원 1	MAGEA1; MAGE1	P43355
흑색종-관련 항원 3	MAGEA3; MAGE3	P43357
멜라노트랜스페린	MELTF; MAAp97; CD228	P08582
막 보조인자 단백질	CD46	P15529
메소텔린	MSLN	Q13421
뮤신-1	MUC1; PEM	P15941
뮤신-16	MUC16; CA-125	Q8WX17
골수 세포 표면 항원 CD33	CD33	P20138
신경 세포 부착 분자 1	NCAM1; CD56	P13591
온코스타틴-M	OSM	P13725
온코스타틴-M 특이적 수용체 하위유닛 베타	OSMR; IL31RB	Q99650
혈소판 당단백질 4	CD36	P16671
프로그래밍된 세포 사멸 1 리간드 1	CD274	Q9NZQ7
프로사포신 수용체 GPR37	GPR37	O15354
진립선 특이적 항원	KLK3; PSA	P07288
진립선 산 포스파타제	ACPP	P15309
단백질 PML	PML; TRIM19; My1	P29590
PWWP 도메인 함유 DNA 수복 인자 3A	PWWP3A; MUM1	Q2TAK8
수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-2	ERBB2; HER2; CD340	P04626
수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-3	ERBB3; HER3	P21860
수용체 티로신-단백질 키나제 erbB-4	ERBB4; HER4	Q15303
수용체-유형 티로신-단백질 포스파타제 C	PTPRC; CD45	P08575
T 세포 표면 당단백질 CD5	CD5	P06127
T 세포 특이적 표면 당단백질 CD28	CD28	P10747
트랜스페린 수용체 단백질 1	TFRC; CD71	P02786
경막 4 L6 패밀리 구성원 1	TM4SF1; TAAL6	P30408
영양막 당단백질	TPBG; 5T4	Q13641
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 10B	TNFRSF10B; DR5; CD262	O14763
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 1A	TNFRSF1A; TNFR1; CD120a	P19438
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 1B	TNFRSF1B; TNFR2; CD120b	P20333
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 3	LTBR; TNFR3	P36941
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 5	CD40	P25942
종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리 구성원 6	TNFR6; Apo-1; Fas; CD95	P25445
유비퀴틴 콘주게이션 효소 E2 K	UBE2K	P61086
유비퀴틴-단백질 리가제 E3A	UBE3A	Q05086
혈관 내피 성장 인자 A	VEGFA	P15692
혈관 내피 성장 인자 B	VEGFB	P49765
혈관 내피 성장 인자 수용체 1	FLT1; VEGFR1	P17948
혈관 내피 성장 인자 수용체 2	KDR; VEGFR2; CD309	P35968
혈관 내피 성장 인자 수용체 3	FLT4; VEGFR3	P35916
아연 핑거 단백질 354C	ZNF354C; KID3	Q86Y25
다른 종양 항원(들)	예컨대, 인용문헌(들) 참고	
3-푸코실-N-아세틸락토스아민	Gooi, H.C. (1983), "Marker of peripheral blood granulocytes and monocytes of man recognized by two monoclonal antibodies VEP8 and VEP9 involves the trisaccharide 3-fucosyl-N-acetylactosamine", Eur. J. Immuno. 13(4):306-12.	
혈액형 A 항원	Gooi, H.C., <i>et al.</i> (1983), "Monoclonal antibody reactive with the human epidermal-growth-factor receptor recognizes the blood-group-A antigen", Biosci. Rep. 3(11):1045-52.	

다이푸코실 유형 1 사슬 (A1eb) 다이푸코실 유형 2 사슬 (A1ey)	Dohi, T. et al. (1989), "Immunohistochemical Study of carbohydrate antigen expression in gastric carcinoma", Gastroenterol Jpn. 24(3): 239-45; Yazawa, S. et al. (1993), "Aberrant alpha1-->2Fucosyltransferases Found in Human Colorectal Carcinoma Involved in the Accumulation of Leb and Y Antigens in Colorectal Tumors", Jpn. J. Cancer Res. 84:989-995
강글리오시드 항원 4.2	Nudelman, E. et al. (1982), "Characterization of a human melanoma-associated ganglioside antigen defined by monoclonal antibody, 4.2", J. Biol. Chem. 257(21): 12752-6
강글리오시드 항원 D1.1	Levine, J.M., et al. (1984), "The D1.1 antigen: a cell surface marker for germinal cells of the central nervous system", J. Neurosci. 4(3):820-31
강글리오시드 GD2/GD3/GM2/GM3	Krengel, U. and Bousquet P.A. (2014), "Molecular Recognition of Gangliosides and Their Potential for Cancer Immunotherapies", Front. Immuno. 5(325):1-11
락토실세라미드	Symington, F.W. (1984), "Monoclonal Antibody Specific for Lactosylceramide", J. Biol. Chem. 259(9):6008-6012
Rh 항원 (D, C, c, E 또는 e)	Avent, N.D. and Reid, M.E. (2000), "The Rh blood group system: a review", Blood 95:375-387
시알릴-Tn	Holmberg, L.A. (2001) "Theratope Vaccine (STn-KLH)", Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91

[0312] TA를 인식하는 항체는 기술분야에 알려져 있거나 또는 본원에 기술된 것들을 포함하여, 잘 알려져 있는 방법을 사용하여 생성될 수 있다. TA에 결합할 수 있는 VL 및 VH 도메인을 포함하고, 그것의 서열 또는 폴리펩타이드 사슬이 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자의 구성에 사용될 수 있는 대표적인 항체는 표 2에 열거된다. 여러 종양 항원에 결합하는 항체에 대한 대표적인 VH 및 VL 도메인이 아래에서 제시된다.

표 2

항체 명칭	종양 항원(들)	치료 표적 적용
아바고보맙(Abasovomab)	CA-125	난소암
아데카투무맙(Adecatumumab)	Epcam	전립선 및 유방암
아푸투주맙(Afutuzumab)	CD20	림프종
알라시주맙(Alacizumab)	VEGFR2	암
알투모맙(Altumomab)	CEA	대장암
아마투시맙(Amatumumab)	메소텔린	암
아나투모맙 마페나톡스(Mafentox) (Anatumomab)	TAG-72	비-소세포 폐 암종
아니프롤루맙(Anifrolumab)	인터페론 α/β 수용체	전신성 홍반성 루푸스
안루킨주맙(Anrukizumab)	IL-13	암
아폴리주맙(Apolizumab)	HLA-DR	혈액암
아르시투모맙(Arcitumomab)	CEA	위장암
아티누맙(Atinumab)	RTN4	암
벡투모맙(Bectumomab)	CD22	비-호지킨 림프종 (검출)
벨리우맙(Belumomab)	BAFF	비-호지킨 림프종

[0313]

베바시주맵(Bevacizumab)	VEGF-A	전이성 암, 미숙아 망막병증
비바투주맵(Bivatuzumab)	CD44 V6	편평 세포 암종
블리나투모맵(Blinatumomab)	CD19	암
브렌톡시맵(Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	혈액암
칸투주맵(Cantuzumab)	MUC1	암
칸투주맵 메르탄신(Cantuzumab Mertansine)	뮤신 카낙(Canag)	대장암
카플라시주맵(Caplacizumab)	VWF	암
카프로맵(Capromab)	전립선 암종 세포	전립선암 (검출)
카를루맵(Carlumab)	MCP-1	종양학/면역 적응증
카툼악소맵(Catumaxomab)	Epcam, CD3	난소암, 악성 복수, 위암
세툼시맵(Cetuximab)	EGFR	전이성 대장암 및 두경부암
시타투주맵(Citatumumab)	Epcam	난소암 및 기타 고체 종양
시수투무맵(Cixutumumab)	IGF-1 수용체	고체 종양
클리바투주맵(Clivatuzumab)	MUC1	췌장암
코나투무맵(Conatumumab)	TRAIL-R2	암
다세투주맵(Dacetuzumab)	CD40	혈액암
달로투주맵(Dalotuzumab)	인슐린 유사 성장 인자 I 수용체	암
다라투무맵(Daratumumab)	CD38	암
데미주맵(Demcizumab)	DLL4	암
데닌투주맵(Denintuzumab)	CD19	급성 림프모세포성 백혈병 및 B 세포 비-호지킨 림프종
데투모맵(Detumomab)	B 림프종 세포	림프종
드로지투맵(Drozitumab)	DR5	암
둘리고투맵(Duligotumab)	HER3	암
두시기투맵(Dusigitumab)	ILGF2	암
에크로멕시맵(Ecromeximab)	GD3 ganglioside	악성 흑색종
에드레콜로맵(Edrecolomab)	Epcam	대장 암종
엘로투주맵(Elotuzumab)	SLAMF7	다발성 골수종
엘실리모맵(Elsilimomab)	IL-6	암
에나바투주맵(Enavatuzumab)	TWEAK 수용체	암
엔리모맵(Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	암
에노블리투주맵(Enoblituzumab)	B7-H3	암
에노티쿠맵(Enoticumab)	DLL4	암
엔시톡시맵(Ensituximab)	5AC	암
에피투모맵 시톡세탄(Epitumomab Cituxetan)	에 피시알린	암
에프라투주맵(Epratuzumab)	CD22	암, SLE
에르투막소맵(Ertumaxomab)	HER2, CD3	유방암
에타라시주맵(Etaracizumab)	인테그린 α-B ₃	흑색종, 전립선암, 난소암
파탈리모맵(Faralimomab)	인터페론 수용체	암
파를레투주맵(Farletuzumab)	플레이트 수용체 1	난소암
파시누맵(Fasinumab)	HNGF	암
Fh1a05 (B120)	CD20	만성 림프구성 백혈병
리클라투주맵(Ficlatuzumab)	HGF	암
피기투무맵(Figitumumab)	IGF-1 수용체	부신피질 암종, 비-소세포 폐 암종

[0314]

플란보투맙(Flanvotumab)	TYRP1 (당단백질 75)	흑색종
플로테투주맙(Flotetuzumab)	CD123	급성 골수성 백혈병
프레솔리무맙(Fresolimumab)	TGF-β	암
푸톡시맙(Futuximab)	EGFR	암
갈릭시맙(Galiximab)	CD80	B 세포 림프종
가니투맙(Ganitumab)	IGF-I	암
젬투주맙 오조가미신(Gemtuzumab Ozogamicin)	CD33	급성 골수성 백혈병
기렌톡시맙(Girentuximab)	탄산 탈수효소 9 (CA-IX)	투명 세포 신장 세포 암종
글렘바투주맙 베도틴(Glembatumumab Vedotin)	GFNMB	흑색종, 유방암
이브리투모맙 티옥세탄(Ibritumomab Tiuaxetan)	CD20	비-호지킨 림프종
이크루쿠맙(Icrucumab)	VEGFR-1	암
임가투주맙(Imgatuzumab)	EGFR	암
인클라쿠맙(Inclacumab)	셀렉틴 P	암
인다톡시맙 라브탄신(Indatuximab Ravtansine)	SDC1	암
이노투주맙 오조가미신(Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	암
인테투무맙(Intetumumab)	CD51	고체 종양 (전립선암, 흑색 종)
이필리무맙(Ipilimumab)	CD152	흑색종
이라투무맙(Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	호지킨 림프종
이톨리주맙(Itolizumab)	CD6	암
라베투주맙(Labetuzumab)	CEA	대장암
람팔리주맙(Lampalizumab)	CFD	암
레브리키주맙(Lebrikizumab)	IL-13	호지킨 림프종
렉사투무맙(Lexatumumab)	TRAIL-R2	암
리겔리주맙(Ligelizumab)	IGHE	암
린투주맙(Lintuzumab)	CD33	암
리릴루맙(Lirilumab)	KIR2D	암
로르보투주맙(Lorvotuzumab)	CD56	암
루카투무맙(Lucatumumab)	CD40	다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, 호지킨 림프종
루밀릭시맙(Lumiliximab)	CD23	만성 림프구성 백혈병
마파투무맙(Mapatumumab)	TRAIL-R1	암
마르게톡시맙(Margetuzimab)	HER2	HER2 양성 암
마투주맙(Matuzumab)	EGFR	대장암, 폐암 및 위암
밀라투주맙(Milatuzumab)	CD74	다발성 골수종 및 다른 혈액 악성 종양
민레투모맙(Minretumomab)	TAG-72	암
미투모맙(Mitumomab)	GD3 강글리오시드	소세포 폐 암종
모가몰리주맙(Mogamulizumab)	CCR4	암
모롤리무맙(Morolimomab)	Bh 인자	암

[0315]

모세투모맙 파수도톡스(Mozetumomab Pasudotox)	CD22	암
나콜로맙 타페나톡스(Nacolomab Tafenatox)	C242 항원	대장암
나밀루맙(Namilumab)	CSF2	암
납투모맙 에스타페나톡스(Naptumomab Estafenatox)	5T4	비-소세포 폐암, 신장 세 포암
나르나투맙(Narnatumab)	RON	암
낙시타맙(Naxitamab)	GD2	신경모세포종, 골육종
네시투무맙(Necitumumab)	EGFR	비-소세포 폐암
네렐리모맙(Nerelimomab)	TNF- α	암
네스바쿠맙(Nesvacumab)	안지오포이에틴 2	암
니모투주맙(Nimotuzumab)	EGFR	편평 세포암, 두경부암, 비인두암, 신경교종
니볼루맙(Nivolumab)	PD-1	암
노페투모맙 메르펜탄(Nofetumomab Merpentan)	측정되지 않음	암
오카라투주맙(Ocaratuzumab)	CD20	암
오파투무맙(Ofatumumab)	CD20	만성 림프구성 백혈병
올라라투맙(Olaratumab)	PDGF-R A	암
올로키주맙(Olokizumab)	IL6	암
옵부르타맙(Omburtamab)	B7-H3	신경모세포종, 육종, 전이성 뇌암
오나르투주맙(Onartuzumab)	인간 산란 인자 수용체 키나제	암
온투시주맙(Ontuxizumab)	TEM1	암
오포르투주맙 모나톡스(Opportuzumab Monatox)	Epcam	암
오레고보맙(Oregovomab)	CA-125	난소암
오르티쿠맙(Orticumab)	Ox1d1	암
오티르투주맙(Otiertuzumab)	CD37	암
파니투무맙(Panitumumab)	EGFR	대장암
판코맙(Pankomab)	MUC1의 종양 특이적 글리코실화	난소암
파르사투주맙(Parsatuzumab)	EGFL7	암
파트리투맙(Patritumab)	HER3	암
펜브롤리주맙(Pembrolizumab)	PD-1	암
펜투모맙(Pentumomab)	MUC1	암
페라키주맙(Perakizumab)	IL17A	관절염
페르투주맙(Pertuzumab)	HER2	암
피딜리주맙(Pidilizumab)	PD-1	암
피나투주맙 베도틴(Pinatuzumab Vedotin)	CD22	암
핀투모맙(Pintumomab)	선암종 항원	선암종
플라쿨루맙(Placulumab)	인간 TNF	암
폴라투주맙 베도틴(Polatuzumab Vedotin)	CD79B	암
프리트록삭시맙(Pritoxaximab)	대장균 시가 독소 유형-1	암
프리트투무맙(Pritumumab)	비멘틴	뇌암

[0316]

퀼리주맵(Quilizumab)	IGHE	암
라코투모맵(Racotumomab)	N-글리콜릴뉴라민산	암
라드레투맵(Radretumab)	피브로넥틴 엑스트라 도메인-B	암
라무시루맵(Ramucirumab)	VEGFR2	고체 종양
릴로투무맵(Rilotumumab)	HGF	고체 종양
리톡시맵(Rituximab)	CD20	림프종, 백혈병, 일부 자가면역 장애
로바투무맵(Robatatumab)	IGF-1 수용체	암
롤레두맵(Boledumab)	BHD	암
사말리주맵(Samalizumab)	CD200	암
사투모맵 펜데티드(Satumomab Pendetide)	TAG-72	암
세리반투맵(Seribantumab)	ERBB3	암
시브로투주맵(Sibrotuzumab)	FAP	암
실톡시맵(Siltuximab)	IL-6	암
솔리토맵(Solitomab)	Epcam	암
손투주맵(Sontuzumab)	에피시알린	암
타발루맵(Tabalumab)	BAFF	B 세포 암
타카투주맵 테트락세탄(Tacatumab Tetraxetan)	알파-피토단백질	암
타플리투모맵 팍톡스(Taplutumomab Paptos)	CD19	암
텔리모맵(Telimomab)	측정되지 않음	암
테나투모맵(Tenatumomab)	테나신 C	암
테넬릭시맵(Teneliximab)	CD40	암
테프로투무맵(Teprotumumab)	CD221	혈액 종양
티실리무맵(Ticilimumab)	CTLA-4	암
티가투주맵(Tigatuzumab)	TRAIL-R2	암
토시투모맵(Tositumomab)	CD20	여포 림프종
토베투맵(Tovetumab)	CD140a	암
트라스투주맵(Trastuzumab)	HER2	유방암
Trbs07 (엑토맵(Ektomab))	Gd2	흑색종
트레멜리무맵(Tremelimumab)	CTLA-4	암
투코투주맵 셀모류킨(Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	암
우블리톡시맵(Ublituximab)	MS4A1	암
우렐루맵	4-1BB	암
바다스톡시맵(Vadastuximab)	CD33	급성 골수성 백혈병
반딕투맵(Vantictumab)	프리즐 수용체	암
바팔릭시맵(Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	암
바텔리주맵(Vatelizumab)	ITGA2	암
벨투주맵(Veltuzumab)	CD20	비-호지킨 림프종
베센쿠맵(Vesencumab)	NRP1	암
볼로식시맵(Volociximab)	인테그린 A5B1	고체 종양
보르세투주맵(Vorsetuzumab)	CD70	암
보투무맵(Votumumab)	종양 항원 CTAA16.88	대장 종양
잘루투무맵(Zalutumumab)	EGFR	두경부의 편평 세포 암종

[0317]

자톡시맵(Zatuximab)	HER1	암
지랄리무맵(Ziralimumab)	CD147	암
졸베투시맵(Zolbetuximab)	C1dn18.2	위장 선암종 및 췌장 종양

[0318]

[0319]

a) PD-L1 결합 도메인

[0320]

PD-L1 (CD274 및 B7-H1로도 알려져 있음)은 T 림프구, B 림프구, DC, 대식세포의 표면에서 및 비-혈액 세포에서 일반적으로 발현되는 40 kDa 경막 단백질이다. 더불어, PD-L1은 또한 종양 세포에서 비정상적으로 높은 발현을 보이며, 그것은 종양 면역 회피 능력을 촉진하는 원인이 되는 주요 인자인 것으로 여겨진다. PD-L1과 그것의 수용체인, T 세포 상의 PD-1와의 결합은 T 세포의 증식, 사이토카인 생성 및 방출, 및 세포독성을 억제하는 신호를 전달하는 PD-1 수용체의 하류 신호전달을 활성화한다. PD-L1/PD-1을 차단하는 항체는 PD-1 축을 파괴함으로써 T 세포 억제를 반전시키고 내인성 항종양 면역을 증강시킨다. PD-L1에 결합하는 **CD137 x TA 결합 분자**는 PD-L1을 발현하는 종양 세포, 및 CD137을 발현하는 면역 세포를 공동 결합시킬 수 있다. 임의의 특정 방법에 제한되지는 않지만, 그러한 공동 국지화는 면역 세포를 자극할 수 있는 한편, 또한 PD-L1 - PD-1 결합시 발생하는 면역 체계 억제를 약화시키거나 차단한다.

[0321] 임의의 항-PD-L1 항체의 에피토프 결합 부위는 본 발명에 따라 사용될 수 있고, 본 발명의 원리는 PD-L1 중앙 항원과 관련하여 예시된다. 인간 PD-L1에 결합하는 대표적인 항체로는, 각각 최근에 인간에서 사용이 승인된 아테졸리주맙, 아벨루맙(avelumab), 및 두르발루맙(durvalumab)을 들 수 있다. 아테졸리주맙 (TECENTRIQ®로서 시판됨; CAS Reg No. 1380723-44-3; 미국 특허 제 9,873,740호 참고)은 변형된 IgG1 및 카파 불변 영역을 가진 인간화된 단클론성 항체이다. 아벨루맙 (BAVENCIO®로서 시판됨; CAS Reg No. 1537032-82-8; 미국 특허 제 9,873,740호 참고)은 IgG1/람다 불변 영역을 가진 완전한 인간 단클론성 항체이다. 두르발루맙 (IMFINZI®로서 시판됨; CAS Reg. No. 1428935-60-7; 미국 특허 제 8,779,108호 참고)은 변형된 IgG1 및 카파 불변 영역을 가진 완전한 인간 단클론성 항체이다. 아테졸리주맙 (WHO Drug Information, 2015, Recommended INN: List 74, 29(3):387), 두르발루맙 (WHO Drug Information, 2015, Recommended INN: List 74, 29(3):393-394) 및 아벨루맙 (WHO Drug Information, 2016, Recommended INN: List 74, 30(1):100-101)의 완전한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 기술분야에 알려져 있다. 인간화된 항-PD-L1 항체 "hPD-L1 MAB-2" 및 그것의 최적화된 변이체를 포함하여, 추가적인 항-PD-L1 항체가 또한 본원에 제공된다.

[0322] (1) hPD-L1 MAB-2

[0323] hPD-L1 MAB-2 (hPD-L1 MAB-2 VH1)의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:57)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0324] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIGGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLKTED TAVYYCARQG
LPYYFDYWGQ GTLVTVSS

[0325] hPD-L1 MAB-2 (hPD-L1 MAB-2 VL1)의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:58)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0326] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ HYNTPLTFGQ
GTKVEIK

[0327] (2) 탈면역화되고 최적화된 hPD-L1 MAB-2

[0328] 아래의 실시예에서 기술되는 것과 같이 hPD-L1 MAB-2는 탈면역화되고 결합 및 발현에 대해 최적화되어 "hPD-L1 MAB-2 VH_x"로 표시된 변이체 VH 도메인 및 "hPD-L1 MAB-2 VL_x"로 표시된 VL 도메인이 생성되었다. 특정한 탈면역화되고 최적화된 변이체 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열이 아래에서 제시되며, 추가적인 변이체가 실시예에서 제공된다.

[0329] hPD-L1 MAB-2 VH_x의 아미노산 서열은 (서열 번호:59)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0330] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIX₄GGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNX₅LY LQMNSLX₆X₇ED TAVYYCARX₈G
LPYYX₉DYWGQ GTLVTVSS

[0331] 여기서: X₄, X₅, X₆, X₇, X₈, 및 X₉는 독립적으로 선택되며,

[0332] 여기서: X₄는 G 또는 K이고; X₅는 S 또는 T이며; X₆는 K 또는 R이고; X₇은 A 또는 T이며; X₈은 A 또는 Q이고; X₉는 F 또는 G이다.

[0333] 구체적인 구체예에서:

[0334] a) X₄는 G이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 Q이고; X₉는 F이거나;

[0335] b) X₄는 K이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 Q이고; X₉는 G이거나;

[0336] c) X₄는 G이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 A이고; X₉는 F이거나;

[0337] d) X₄는 K이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 A이고; X₉는 F이거나;

[0338] e) X₄는 G이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 A이고; X₉는 G이거나; 또는

[0339] f) X₄는 K이고; X₅는 S이며; X₆은 R이고; X₇은 A이며; X₈은 Q이고; X₉는 F이다.

[0340] hPD-L1 MAB-2 VHx의 CDR_H의 아미노산 서열은:

[0341] CDR_{H1} (서열 번호:60): SYTMS

[0342] CDR_{H2} (서열 번호:61): YISIX₄GGTTYYPDTVKG

[0343] CDR_{H3} (서열 번호:62): X₈GLPYX₉DY이고

[0344] 여기서: X₄는 G 또는 K이고; X₈은 A 또는 Q이며; X₉는 F 또는 G이다.

[0345] hPD-L1 MAB-2 VLx의 아미노산 서열은 (서열 번호:63)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0346] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVN X₁₀AVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYNTPLTFGQ
GTKVEIK

[0347] 여기서: X₁₀은 E 또는 T이다.

[0348] 구체적인 구체예에서, X₁₀은 E이다.

[0349] PD-L1 MAB-2 VLx의 CDR_L의 아미노산 서열은:

[0350] CDR_{L1} (서열 번호:64): KASQDVNX₁₀AVA

[0351] CDR_{L2} (서열 번호:65): WASTRHT

[0352] CDR_{L3} (서열 번호:66): QQHYNTPLT이고

[0353] 여기서: X₁₀은 E 또는 T이다.

[0354] 본원에서 "hPD-L1 MAB-2 VH2", "hPD-L1 MAB-2 VH3", "hPD-L1 MAB-2 VH4", "hPD-L1 MAB-2 VH5", "hPD-L1 MAB-2 VH6"로서 표시된 5개의 변이체 VH 도메인, 및 본원에서 "hPD-L1 MAB-2 VL2"로서 표시된 한 개의 변이체 VL 도메인의 아미노산 서열이 아래에서 제시된다. 본원에 개시된 변이체 hPD-L1 MAB-2 VH 도메인 중 어느 것이든지 hPD-L1 MAB-2 VL 도메인 중 어느 것보다 쌍을 이룰 수 있다. PD-L1 MAB-2 VH/VL 도메인의 특정 조합을 포함하는 분자는 구체적인 VH/VL 도메인을 언급함으로써 언급되며, 예를 들어, 결합 도메인 PD-L1 MAB-2 VH3 및 hPD-L1 MAB-2 VL2를 포함하는 분자는 "PD-L1 MAB-2(3.2)"로서 구체적으로 언급된다. 변이체 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열은 아래에서 제공되며, VH1 또는 VL1에 대해 CDR의 치환은 이중 밑줄로 표시된다.

[0355] hPD-L1 MAB-2 VH2의 아미노산 서열은 (서열 번호:67)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0356] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFs SYTMSWVQRQA PGKGLEWVAY
ISIGGGTYY PDTVKGRFTI SRDNAKNsLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
LPYYFDYWGQ GTLVTVSS

[0357] hPD-L1 MAB-2 VH3의 아미노산 서열은 (서열 번호:68)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다; 치환은 이중 밑줄로 표시된다):

[0358] EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFs SYTMSWVQRQA PGKGLEWVAY
ISIKGGTYY PDTVKGRFTI SRDNAKNsLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
LPYYGDYWGQ GTLVTVSS

[0359] hPD-L1 MAB-2 VH4의 아미노산 서열은 (서열 번호:69)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다; 치환은 이중 밑줄로 표시된다):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIGGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARAG
LPYYFDYWGQ GTLVTVSS

[0360]

[0361] hPD-L1 MAB-2 VH5의 아미노산 서열은 (서열 번호:70)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIKGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARAG
LPYYFDYWGQ GTLVTVSS

[0362]

[0363] hPD-L1 MAB-2 VH6의 아미노산 서열은 (서열 번호:71)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIGGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARAG
LPYYGDYWGQ GTLVTVSS

[0364]

[0365] hPD-L1 MAB-2 VL2의 아미노산 서열은 (서열 번호:72)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQDVN EAVAWYQQK GKAPKLLIY
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYNTPLT
GTKVEIK

[0366]

[0367] 최적화된 hPD-L1 MAB-2 변이체의 CDR_H2, CDR_H3, 및 CDR_L1의 아미노산 서열은 모 분자에 존재하는 것들과 상이한 것이 주지될 것이다. 상이한 CDR은 이중 밑줄로 표시된 VH1 및 VL1과 차이를 포함하여 아래에서 요약된다:

CDR	아미노산 서열	hPD-L1 MAB-2 변이체
CDR _H 2	<u>YISIKGGTTY</u> PDTVKG (서열 번호:73)	VH3/VH4
CDR _H 3	QGL <u>LPYYGDY</u> (서열 번호:74)	VH3
CDR _H 3	<u>AGLPYYFDY</u> (서열 번호:75)	VH4/VH5
CDR _H 3	<u>AGLPYYGDY</u> (서열 번호:76)	VH6
CDR _L 1	<u>KASQDVNEAVA</u> (서열 번호:77)	VL2

[0368]

[0369] 본 발명은 구체적으로 아테졸리주맙, 아벨루맙, 두르발루맙, hPD-L1 MAB-2 및 그것들의 변이체 중 임의의 것, 또는 본원에 제공된 다른 항-PD-L1 항체 중 임의의 것의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는; 보다 전형적으로 그러한 항-PD-L1 단클론성 항체의 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 가지는 CD137 x PD-L1 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0370]

b) HER2 결합 도메인

[0371]

HER2는 화학적으로 처리된 래트의 신경모세포종으로부터의 형질전환 유전자의 생성물로서 원래 확인된 185 kDa 수용체 단백질이다. HER2는 유방암 및 위암을 포함하는 많은 인간 암종에서의 그것의 역할로 인해 광범위하게 조사되었다.

[0372]

임의의 항-HER2 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있으며, 본 발명의 원리는 HER2 중앙 항원과 관련하여 예시된다. 인간 HER2에 결합하는 대표적인 항체로는 마르케특시맙, 트라스투주맙 및 페르투주맙을 들 수 있다. 마르케특시맙 (MGAH22로도 알려짐; CAS Reg No. 1350624-75-7, 예를 들어, 미국 특허 제 8,802,093호 참고)은 HER2에 결합하여 증강된 ADCC 활성을 매개하는 Fc-최적화된 단클론성 항체이다. 트라스투주맙 (rhuMAB4D5로도 알려지고, Herceptin®로서 시판됨; CAS Reg No 180288-69-1; 미국 특허 제 5,821,337호 참고)은 IgG1/카파 불변 영역을 가진 항체 4D5의 인간화된 버전이다. 페르투주맙 (rhuMAB2C4로도 알려지고, Perjet®로서 시판됨; CAS Reg No 380610-27-5; 예를 들어, WO2001/000245호 참고)은 IgG1/카파 불변 영역을 가진 항체 2C4의 인간화된 버전이다. 마르케특시맙 (WHO Drug Information, 2014, Recommended INN: List 70, 28(1):93-94), 및 트라스투주맙 (트라스투주맙 엠탄신에 대해서는 WHO Drug Information, 2011, Recommended INN: List 65, 25(1):89-90 참고), 및 페르투주맙의 Fab 도메인 (Protein Data Bank 등록 번호 117i)의 완전한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 기술분야에 알려져 있다. HER2 MAB-1 및 그것의 인간화된 변이체를 포함하여, 추가의 항-HER2 항체가 또한 본원에 제공된다.

[0373] (1) hHER2 MAB-1

[0374] 항체 hHER2 MAB-1은 마르케툽시맵, 트라스투주맵 및 페르투주맵에 의해 인식되는 에피토프와 구별되는 HER2의 에피토프에 결합하는 인간화된 항-HER2 단클론성 항체이다 (예컨대, WO 2018/156740 참고).

[0375] 인간화된 항체 (hHER2 MAB-1 VHx)의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:78)이다 (CDRH 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0376] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW
INTNIGEPTY TEEFKGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARDX₁
X₂YGNRVSYWG QGTLVTVSS

[0377] 여기서: X₁은 D 또는 E이고 X₂는 G 또는 I이다.

[0378] 그러한 인간화된 항체 (hHER2 MAB-1 VLx)의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:79)이다 (CDRL 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0379] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIX₃ X₄YLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLX₅X₆GVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLO HDEFPTFGQ
GTKLEIK

[0380] 여기서: X₃은 N 또는 S이고; X₄는 S, T 또는 N이며; X₅는 V 또는 Q이고 X₆은 D, E 또는 S이다.

[0381] 3개의 변이체 hHER2 MAB-1 VH 도메인이 분리되었다: hHER2 MAB-1 VH1, hHER2 MAB-1 VH2, 및 hHER2 MAB-1 VH3. 그러한 변이체 hHER2 MAB-1 VH 도메인의 아미노산 서열은 아래에 제시된다.

[0382] hHER2 MAB-1 VH1의 아미노산 서열은 (서열 번호:80)이다 (CDRH 잔기는 밑줄로 표시된다; CDRH3의 제2 및 제3 잔기는 각각 D 및 G인 것이 주지됨):

[0383] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW
INTNIGEPTY TEEFKGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARD
GYGNRVSYWG QGTLVTVSS

[0384] hHER2 MAB-1 VH2의 아미노산 서열은 (서열 번호:81)이다 (CDRH 잔기는 밑줄로 표시된다; CDRH3의 제2 및 제3 잔기는 각각 E 및 G인 것이 주지됨):

[0385] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW
INTNIGEPTY TEEFKGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARDE
GYGNRVSYWG QGTLVTVSS

[0386] hHER2 MAB-1 VH3의 아미노산 서열은 (서열 번호:82)이다 (CDRH 잔기는 밑줄로 표시된다; CDRH3의 제2 및 제3 잔기는 각각 D 및 I인 것이 주지됨):

[0387] QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW
INTNIGEPTY TEEFKGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARD
IYGNRVSYWG QGTLVTVSS

[0388] 3개의 변이체 hHER2 MAB-1 VL 도메인이 분리되었다: hHER2 MAB-1 VL1, hHER2 MAB-1 VL2, 및 hHER2 MAB-1 VL3. 그러한 변이체 hHER2 MAB-1 VL 도메인의 아미노산 서열은 아래에서 제시된다.

[0389] hHER2 MAB-1 VL1의 아미노산 서열은 (서열 번호:83)이다 (CDRL 잔기는 밑줄로 표시된다; CDR1의 제7 및 제8 잔기는 각각 N 및 S이고, CDR2의 제6 및 제7 잔기는 각각 V 및 D인 것이 주지됨):

[0390] DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIN SYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLVDGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLO HDEFPTFGQ
GTKLEIK

[0391] hHER2 MAB-1 VL2의 아미노산 서열은 (서열 번호:84)이다 (CDRL 잔기는 밑줄로 표시된다; CDR1의 제7 및 제8 잔

기는 각각 N 및 T이고, CDR_{L2}의 제6 및 제7 잔기는 각각 V 및 E인 것이 주지됨):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIN TYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLVEGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HDEFPWTFGQ
 GTKLEIK

[0392]

hHER2 MAB-1 VL3의 아미노산 서열은 (서열 번호:85)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다; CDR_{L1}의 제7 및 제8 잔기는 각각 S 및 N이고, CDR_{L2}의 제6 및 제7 잔기는 각각 Q 및 S인 것이 주지됨):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIS NYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HDEFPWTFGQ
 GTKLEIK

[0394]

위에서 제시된 hHER2 MAB-1 VH 및/또는 VL 도메인의 유전자 서열(들) 내에 포함된 임의의 것을 포함하여, 그러한 인간화된 VH 및 VL hHER2 MAB-1 도메인 중 어느 것이든지 Her2에 결합할 수 있는 항체, 디아바디 또는 결합 분자를 형성하기 위해 사용될 수 있다.

[0395]

(2) 다른 HER2 결합 도메인

[0396]

상기 확인된 HER2 결합 도메인 외에, 발명은 다음의 항-Her-2 결합 도메인 중 어느 것의 임의의 에피토프 결합 부위의 사용을 고려한다: 1.44.1; 1.140; 1.43; 1.14.1; 1.100.1; 1.96; 1.18.1; 1.20; 1.39; 1.24; 및 1.71.3 (미국 특허 제 8,350,011호; 8,858,942호; 및 PCT 특허 공개 공보 WO 2008/019290); F5 및 C1 (미국 특허 제 7,892,554호; 8,173,424호; 8,974,792호; 및 PCT 특허 공개 공보 WO 99/55367); 및 또한 미국 특허 공개 공보 2011/0097323, 2013/017114, 2014/0328836, 2016/0130360 및 2016/0257761, 및 PCT 특허 공개 공보 WO2011/147986)의 항-HER2 항체의 결합 도메인.

[0397]

본 발명은 구체적으로 마르케투스맵, 트라스투주맵, 페르투주맵, hHER2 MAB-1 중 임의의 것, 또는 본원에 제공된 다른 항-HER2 항체 중 임의의 것의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는; 보다 전형적으로 그러한 항-HER2 단클론성 항체의 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDRL 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDRH를 가지는 CD137 x HER2 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0398]

c) EphA2 결합 도메인

[0399]

수용체 티로신 키나제, 에프린 A형 수용체 2 (EphA2)는 일반적으로 성인 상피 조직에서 세포대세포 접촉 부위에서 발현되지만, 최근 연구 결과는 그것이 또한 다양한 유형의 상피 암종에서 과다발현되며, 전이성 병변에서 최대 수준의 EphA2 발현이 관찰된 것을 나타냈다. EphA2의 높은 발현 수준은 전립선암, 유방암, 비-소세포 폐암 및 흑색종을 포함하여, 광범위한 암 및 수많은 종양 세포주에서 발견되었다. EphA2는 단순히 암에 대한 마커인 것으로 여겨지지 않으며, 오히려 수많은 인간 암에서 지속적으로 과다발현되고 기능적으로 변화하는 것으로 보인다. 임의의 항-EphA2 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 아래에서 본 발명의 분자를 생성하기 위해 사용될 수 있는 여러 대표적인 항-EphA2 항체가 제시된다.

[0400]

(1) EphA2 MAB-1

[0401]

항체 EphA2 MAB-1은 쥐과 항-EphA2 단클론성 항체이다. EphA2 MAB-1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:86)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLS RYSVHWVRQP PGKGLEWLGM
IWGGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT AMYYCARKHG
NYYTMDYWGQ GTSVTVSS

[0403]

EphA2 MAB-1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:87)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DIQMTQTTSS LSASLGDRIT ISCRASQDIS NYLNWYQQKP DGTVKLLIYY
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFCQQ GYTLYTFGGG
 TKLEIK

[0405]

(2) EphA2 MAB-2

[0406]

[0407] 항체 EphA2 MAB-2는 쥐과 항-EphA2 단클론성 항체이다. EphA2 MAB-2의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:88)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT NYGMNWKQA PGKGLKWMGW
INTYIGEPTY ADDFKGRFVF SLETSASTAY LQINNLKNEE MATYFCAREL
GPYYFDYWGQ GTTTLTVSS

[0408]

[0409] EphA2 MAB-2의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:89)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DVVMVTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSLV HSSGNTYLHW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNRK SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFCSQSTHVP
TFGSGTKLEI K

[0410]

[0411] (3) EphA2 MAB-3

[0412] 항체 EphA2 MAB-3은 쥐과 항-EphA2 단클론성 항체이다. EphA2 MAB-3의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:90)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT DHYMYWVRQT PEKRLEWVAT
ISDGGSFSTY PDSVKGRFTI SRDIAKNNLY LQMSLKSDE TAMYYCTRDE
SDRPFYWGQ GTLVTVSS

[0413]

[0414] EphA2 MAB-3의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:91)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITCKASQDVT TAVAWYQQKP GQSPKLLIFW
ASTRHAGVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYCQQ HYSTPYTFGG
GTKLEIK

[0415]

[0416] (4) 다른 EphA2 결합 도메인

[0417] 상기 확인된 EphA2 결합 도메인 외에, 발명은 다음의 항-EphA2 항체 중 어느 것의 임의의 에피토프 결합 부위의 사용을 고려한다: SPL1, LUCA19, SG5, 또는 LUCA40 (PCT 특허 공개 공보 WO 2006/084226 참고); B13 (미국 특허 제 7,101,976호 참고); D7 (미국 특허 제 7,192,698호 참고); B-233, 및 EA2 (PCT 특허 공개 공보 WO 2003/094859 참고).

[0418] 본 발명은 구체적으로 항-EphA2 단클론성 항체 EphA2 MAB-1, EphA2 MAB-2 또는 EphA2 MAB-3의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x EphA2 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0419] d) 5T4 결합 도메인

[0420] 종양태아 단백질인 5T4는 신장, 결장, 전립선, 폐, 암종을 포함한 많은 암종의 세포막 상에서 및 급성 림프모세포성 백혈병에서 표시된 종양 관련 단백질이다. 임의의 항-5T4 항체의 에피토프 결합 부위는 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 아래에서 2개의 대표적인 항-5T4 항체인 인간화된 "5T4 MAB-1", 및 쥐과 "5T4 MAB-2"가 제시된다. 추가의 항-5T4 항체가 기술분야에서 기술된다 (예컨대, 미국 특허 제 8,084,249호; 8,409,577호; 8,759,495호; 8,409,577호; PCT 공개 공보: WO 2013/041687; WO 2014/137931; WO 2016/022939 참고)

[0421] (1) 5T4 MAB-1

[0422] 5T4 MAB-1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:92)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SFWMHWVRQA PGQGLEWMGR
IDPNRGGTEY NEKAKSRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAGGN
PYYPMDYWGQ GTTTLTVSS

[0423]

[0424] 5T4 MAB-1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:93)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DIQMTQSPSS LSASVGRVIT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDEFPWTFGG
GTKLEIK

[0425]

[0426] (2) 5T4 MAB-2

[0427] 5T4 MAB-2의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:94)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT SYWITWVKQR PGQGLEWIGD
IYPGSGRANY NEKFKSKATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCARYG
PLEFTTVVDPN SYAMDYWGQG TSVTVSS

[0428]

[0429] 5T4 MAB-2의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:95)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISCRSSQSIV YSNGNTYLEW YLQKPGQSPK
LLIYKVSNRF SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYCFQGSHPV
FTFGSGTKLE IK

[0430]

[0431] 본 발명은 구체적으로 항-5T4 단클론성 항체 5T4 MAB-1 또는 5T4 MAB-2, 또는 WO 2007/106744; WO 2013/041687 또는 WO 2015/184203에 제공된 항-5T4 항체 중 임의의 것의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 **CD137 x 5T4 결합 분자**를 포함하고 포괄한다.

[0432] e) B7-H3 결합 도메인

[0433] B7-H3은 광범위한 고체 종양 유형에서 과다 발현되고 면역 조절에 관여하는 분자의 B7 패밀리의 구성원인 종양 항원이다. 특히, 여러 독립적인 연구가 인간 악성 종양 세포 (예컨대, 신경모세포종 및 위암, 난소암 및 비-소 세포 폐암의 종양 세포)가 B7-H3 단백질의 발현의 현저한 증가를 나타내며 이런 증가된 발현은 증가된 질환 중증도와 관련이 있음을 보였고, 이는 B7-H3이 종양에 의해 면역 회피 경로로서 이용되는 것을 시사한다.

[0434] 임의의 항-B7-H3 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 인간 B7-H3에 결합하는 하나의 대표적인 인간화된 항체는 "에노블리투주맵"이다. 에노블리투주맵 (MGA271로도 알려짐; CAS Reg No. 1353485-38-7; 예를 들어, 미국 특허 제 8,802,091호 참고)은 B7-H3에 결합하여 증강된 ADCC 활성을 매개하는 Fc-최적화된 단클론성 항체이다. 에노블리투주맵 (WHO Drug Information, 2017, Recommended INN: List 77, 31(1):149)의 완전한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 기술분야에 알려져 있다. 추가의 대표적인 항-B7-H3 항체가 제시된다.

[0435] (1) hBRCA69D

[0436] 인간화된 항-B7-H3 항체 "hBRCA69D"의 대표적인 VH 및 VL 도메인이 아래에 제시된다. 기능성 인간화된 결합 도메인을 유발하기 위하여 임의의 조합의 VH/VL에 사용될 수 있는 2개의 인간화된 VH 도메인, hBRCA69D VH1 및 hBRCA69D VH2; 및 2개의 인간화된 VL 도메인 hBRCA69D VL1 및 hBRCA69D VL2가 아래에 제공된다.

[0437] hBRCA69D VH1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:96)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGDGTRY TQKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0438]

[0439] hBRCA69D VH2의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:97)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT SYWMQWVRQA PGQGLEWMGT
IYPGGGTRY TQKFOGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARRG
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

[0440]

[0441] hBRCA69D VL1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:98)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다).

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLHSGVPS RFGSGSGGTD FTLTISLQIP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0442]

[0443] hBRCA69D VL2의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:99)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다).

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQ^SIS SYLNWYQQKP GKAPKLLIYY
TSRLQ^SGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYCQQ GNTLPPTFGG
GTKLEIK

[0444]

[0445] (2) hPRCA157

[0446] 또 다른 대표적인 인간화된 항-B7-H3 항체는 "hPRCA157"이다. hPRCA157 VH1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:100)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
INSGGSNTYY PDSLKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARHD
GGAMDYWGQG TTVTVSS

[0447]

[0448] hPRCA157 VL1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:101)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASESIY SYLAWYQQKP GKAPKLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYGTPPWTFG
QGTRLEIK

[0449]

[0450] (3) 다른 B7-H3 결합 도메인

[0451] 상기 확인된 B7-H3 결합 도메인 외에, 발명은 다음의 항-B7-H3 항체 중 임의의 것의 임의의 에피토프 결합 부위의 사용을 고려한다: LUCA1; BLA8; PA20; 또는 SKN2 (미국 특허 제 7,527,969호; 8,779,098호 및 PCT 특허 공개 공보 WO 2004/001381 참고); M30; cM30; M30-H1-L1; M30-H1-L2; M30-H1-L3; M30-H1-L4; M30-H1-L5; M30-H1-L6; M30-H1-L7; M30-H4-L1; M30-H4-L2; M30-H4-L3; 및 M30-H4-L4 (미국 특허 공개 공보 2013/0078234 및 PCT 특허 공개 공보 WO 2012/147713 참고); 및 8H9 (미국 특허 제 7,666,424호; 7,737,258호; 7,740,845호; 8,148,154호; 8,414,892호; 8,501,471호; 9,062,110호; 미국 특허 공개 공보 2010/0143245 및 PCT 특허 공개 공보 WO 2008/116219 참고).

[0452] 본 발명은 구체적으로 인간화된 BRCA69D, PRCA157, 인간화된 PRCA157, 또는 에노블리투주맙 중 어느 것 또는 본원에 제공된 임의의 다른 항-B7-H3 항체의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는; 보다 전형적으로 그러한 항-B7-H3 단클론성 항체의 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x B7-H3 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0453] f) GpA33 결합 도메인

[0454] 43kD 경막 당단백질 A33 (gpA33)은 모든 대장 암종의 >95%에서 발현된다. 임의의 항-gpA33 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 대표적인 인간화된 항-gpA33 항체 ("gpA33 MAB-1")아 아래에 제시된다.

[0455] gpA33 MAB-1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:102)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT GSWMNWVRQA PGQGLEWIGR
IYPGDGETNY NGKFKDRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARIY
GNNVYFDVWG QGT^TTVTVSS

[0456]

[0457] gpA33 MAB-1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:103)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCSARSSIS FMYWYQQKPG KAPKLLIYDT
SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLEAE DAATYYCQQW SSYPLTFGQG
TKLEIK

[0458]

[0459] 본 발명은 구체적으로 항-gpA33 단클론성 항체 gpA33 MAB-1, 또는 WO 2015/026894에 제공된 임의의 항-gpA33 단클론성 항체의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x gpA33 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0460] g) CEACAM5 및 CEACAM6 결합 도메인

[0461] 암배아 항원 관련 세포 부착 분자 5 (CEACAM5) 및 6 (CEACAM6)은 수질성 갑상선암, 대장암, 췌장암, 간세포 암종, 위암, 폐암, 두경부암s, 요도방광암, 전립선암, 자궁암, 자궁내막암, 유방암, 조혈암, 백혈병 및 난소암, 및 특히 대장, 위장, 췌장, 비-소세포 폐암 (NSCL), 유방, 갑상선, 위, 난소 및 자궁 암종을 포함한 다양한 유형의 암과 관련된 것으로 나타났다. 임의의 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 대표적인 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체가 아래에서 제공된다.

[0462] (1) 16C3

[0463] 인간화된 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체 16C3 (EP 2585476)의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:104)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

[0464] QVQLQQSGPE VVRPGVSVKI SCKGSGYTFT DYAMHWVKQS HAKSLEWIGL
ISTYSGDTKY NQNFKGKATM TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCARGD
YSGSRYWFAY WGQGTLVTVS S

[0465] 인간화된 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체 16C3 (EP 2585476)의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:105)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

[0466] DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCGASENIY GALNWYQRKP GKSPKLLIWG
ASNLAGMP RFSGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYYCQN VLSSPYTFGG
GTKLEIK

[0467] (2) hMN15

[0468] 인간화된 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체 hMN15 (US8,287,865)의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:106)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

[0469] QVQLVESGGG VVQGRSLRL SCSSSGFALT DYYMSWVRQA PGKGLEWLGE
IANKANGHTT DYSPSVKGRF TISRDNKNT LFLQMDSLRP EDTGVYFCAR
DMGIRWNFDV WGQGTPVTVS S

[0470] 인간화된 항-CEACAM5 / CEACAM6 항체 hMN15 (US8,287,865)의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:107)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

[0471] DIQLTQSPSS LSASVGDRV MTCSSASSRVS YIHWYQQKPG KAPKRWIYGT
STLASGVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYCQQW SYNPPTFGQG
TKVEIKR

[0472] 본 발명은 구체적으로 항-CEACAM5/CEACAM6 단클론성 항체 16C3 또는 hMN15의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x CEACAM5/CEACAM6 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0473] h) CD19 결합 도메인

[0474] CD19 (B 림프구 표면 항원 B4, Genbank 등록 번호 M28170)는 B 세포-수용체 (BCR) 복합체의 구성요소이며, B 세포 활성화 및 체액 면역에 대한 한계값을 조절하는 B 세포 신호전달의 양성 조절자이다. CD19는 B 세포 계통에서 가장 보편적으로 발견되는 항원 중 하나이며 급성 림프모세포성 백혈병 (ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 비-호지킨 림프종 (NHL)을 포함하여, B 세포 악성 종양의 >95%에서 발현된다. 특히, CD19 발현은 항-CD20 치료법에 대해 내성이 되는 B 세포 림프종에서 유지된다. CD19는 또한 자가면역 질환을 치료하기 위한 표적으로서 제안되었다.

[0475] 임의의 항-CD19 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 인간 CD19에 결합하고, 본 발명에 사용될 수 있는 대표적인 인간화된 항체는 WO 2016/048938에서 게시된 인간화된 항-CD19 항체 (본원에서 "CD19 MAB-1"로 언급됨)이다.

[0476] CD19 MAB-1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:108)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSL TSGMGVWIR QPPGKALEWL
AHIWDDDKR YNPALKSRLT ISKDTSKNQV FLTMTNMDPV DTATYYCARM
ELWSYYFDYW GQGTTVTVSS

[0477]

[0478] CD19 MAB-1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:109)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPTFGQG
TKLEIK

[0479]

[0480] 본 발명은 구체적으로 항-CD19 단클론성 항체 CD19 MAB-1, 또는 미국 특허 US 7,112,324에서 개시되거나, 또는 블리나투모맵 (BLINCYTO®; WHO Drug Information, 2009, Recommended INN: List 62, 23(3):240-241에서 발견되는 아미노산 서열) 및 두보르톡시주맵 (aka MGD011; WHO Drug Information, 2016, Proposed INN: List 116, 30(4):627-629에서 발견되는 아미노산 서열)에 존재하는 임의의 항-CD19 항체의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x CD19 결합 분자 를 포함하고 포괄한다.

[0481]

i) CD123 결합 도메인

[0482]

CD123 (인터류킨 3 수용체)은 독특한 알파 사슬인, 40 kDa 분자인 IL-3Ra이다. 인터류킨 3 (IL-3)은 적혈구, 골수 및 림프 전구체의 세포로의 다능성 줄기 세포의 초기 분화를 유도한다. CD123은 급성 골수성 백혈병 (AML) 및 골수형성 이상증후군 (MDS)을 포함하여 광범위한 혈액암에서 악성 세포 상에서 과다발현되는 것으로 보고되었다. CD123의 과다발현은 AML에서 더 불량한 예후와 관련이 있다.

[0483]

임의의 항-CD123 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 인간 CD123에 결합하고, 본 발명에 사용될 수 있는 대표적인 인간화된 항체는 "CD123 MAB-1"이다 (예컨대, PCT 특허 공개 공보 WO 2015/026892 참고).

[0484]

CD123 MAB-1의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:110)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

EVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKASGYTFT DYYMKWVRQA PGQGLEWIGD
IIPSNQATFY NQKFKGRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARSH
LLRASWFAYW GQGTLLVTVSS

[0485]

[0486] CD123 MAB-1의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:111)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLIIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK

[0487]

[0488] 본 발명은 구체적으로 항-CD123 단클론성 항체 CD123 MAB-1, 또는 US 2017/081424 및 WO 2016/036937에 개시되거나, 또는 JNJ-63709178 (Johnson & Johnson, 또한 WO 2016/036937 참고) 및 XmAb14045 (Xencor, 또한 US 2017/081424 참고)에 존재하는 임의의 항-CD123 항체의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x CD123 결합 분자 를 포함하고 포괄한다.

[0489]

j) IL13R α2

[0490]

인터류킨-13 수용체 α2 (IL13R α2)는 교모세포종, 대장암, 자궁경부암, 췌장암, 다발성 흑색종, 골육종, 백혈병, 림프종, 전립선암 및 폐암을 포함하여 다양한 암에서 과다발현된다. IL13R α2에 면역특이적으로 결합하는 항체는 상업적으로 이용 가능하고 기술분야에 기술되어 있다 (예컨대, WO 2008/146911 참고). 인간 IL13R α2에 결합하는 대표적인 인간화된 항체로 "hu08" (예컨대, WO 2014/072888 참고)을 들 수 있다.

[0491] hu08의 VH 도메인의 아미노산 서열 (서열 번호:112)이 아래에 제시된다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RNGMSWVRQA PGKGLEWVAT
VSSGGSYIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
TTALATRFED VWGQGLVTV SS

[0492]

[0493] hu08의 VL 도메인의 아미노산 서열 (서열 번호:113)이 아래에 제시된다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

DIQMTQSPSS LSASVGDRV ITCKASQDVG TAVAWYQQK GKAPKLLIYS
ASYRSTGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQH HYSAPWTFGG
GTKVEIK

[0494]

[0495] 본 발명은 구체적으로 항-IL13R α 2 단클론성 항체 hu08의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x IL13R α 2 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0496]

k) ROR1

[0497]

수용체 티로신 키나제-유사 희귀 수용체 1 ("ROR1")은 세포 표면 수용체의 ROR 하위패밀리에 속하는 유형 I 막 단백질이다. ROR1은 배아생성 중에 많은 조직에 의해 발현되고 난소, 결장, 폐, 림프종, 피부, 췌장, 고환, 방광, 자궁, 전립선, 부신, 유방, 및 B 세포 악성 종양을 포함한 수많은 혈액 및 고체 악성종양에서만 아니라, 일부 암 줄기 세포에서 발현되는 종양 배아 항원이다. ROR1 발현은 덜 분화된 형태를 나타내는 고등급 종양과 관련되며 불량한 임상 결과와 상관이 있다. 임의의 항-ROR1 항체의 에피토프 결합 부위가 본 발명에 따라 사용될 수 있다. 아래에서 본 발명의 분자를 생성하기 위해 사용될 수 있는 대표적인 인간화된/최적화된 항-ROR1 항체가 제시되며, 이 항체의 변이는 WO 2017/142928에서 기술된다.

[0498]

(1) 항-ROR1

[0499]

항-ROR1 항체의 대표적인 VH의 아미노산 서열은 (서열 번호:114)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QEQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMSWXRQA PGKGLEWVAT
IYPSSGKTYI ADSAKRLTI SSDNAKDSLY LQMNSLRAED TAVYYCTRDS
YADDAALFDI WGQGTITVTS S

[0500]

[0501] 여기서 X는 I 또는 V이다.

[0502]

항-ROR1 항체의 대표적인 VL의 아미노산 서열은 (서열 번호:115)이다 (CDR 잔기는 밑줄로 표시됨):

QLVLTQSPSA SASLGSSVKL TCTLSSGHKT DTIDWYQQQP GKAPRYLMKLI
EGSGSYNKG SGVDFRFGSS SGADWYLTIS SLQSEDEADY YCGTDYPGNY
LFGGGTQLTV LG

[0503]

[0504]

(2) 다른 ROR1 결합 도메인

[0505]

상기 확인된 ROR1 결합 도메인 외에, 발명은 다음의 항-ROR1 항체 중 임의의 것의 임의의 에피토프 결합 부위의 사용을 고려한다: 4A5 (US 8,212,009 참고); R11, R12, 및 Y31 (US 9,758,586 참고); 및 A1-A14 (예컨대, US 9,228,023 참고).

[0506]

본 발명은 구체적으로 본원에 제공된 항-ROR1 단클론성 항체 중 임의의 것의 VL 및/또는 VH 도메인, 및/또는 VL 영역의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_L 및/또는 VH 도메인의 1, 2 또는 전부 3개의 CDR_H를 포함하는 CD137 x ROR1 결합 분자를 포함하고 포괄한다.

[0507]

D. 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자

[0508]

본 발명은 특히 CD137 및 TA에 동시에 결합할 수 있는 Fc 함유 4가 및 3가 CD137 x TA 결합 분자, 및 CD137 및 TA에 동시에 결합할 수 있는 다른 Fc 함유 CD137 x TA 결합 분자에 관한 것이다. 본 발명은 추가로 암 및 다른 질환 및 상태의 치료에서의 그러한 분자의 용도에 관한 것이다.

[0509]

1.4가 CD137 x TA Fc 함유 디아바디

[0510]

본 발명은 특히 CD137 및 TA에 동시에 결합할 수 있는 광범위한 Fc 함유 디아바디를 포함한다. 대표적인 CD137

x TA Fc 함유 디아바디가 아래에서 기술된다.

[0511] 그러한 4가 Fc 함유 디아바디는 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 것이다. 그러한 폴리펩타이드 사슬의 제1 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, "제1" 항원 (VL1) (CD137 또는 TA)의 에피토프에 결합할 수 있는 항체의 경쇄 가변 도메인 (VL), "제2" 항원 (VH2) (만약 VL1이 CD137의 에피토프에 결합하도록 선택되었다면 TA; 만약 VL1이 TA의 에피토프에 결합하도록 선택되었다면 CD137)의 에피토프에 결합할 수 있는 항체의 중쇄 가변 도메인 (VH), 시스테인 함유 도메인, 아래에서 보다 상세하게 제공되는 하나 이상의 추가 도메인, 및 C-말단을 함유할 수 있다. 그러한 폴리펩타이드 사슬의 제2 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, "제2" 항원 (VL2) (제1 항원이 CD137이면 TA; 제1 항원이 TA이면 CD137)의 에피토프에 결합할 수 있는 항체의 경쇄 가변 도메인 (VL), "제2" 항원 (VH2) (만약 VL2가 CD137의 에피토프에 결합하도록 선택되었다면 TA; 만약 VL2가 TA의 에피토프에 결합하도록 선택되었다면 CD137)의 에피토프에 결합할 수 있는 항체의 중쇄 가변 도메인 (VH), 시스테인 함유 도메인, 아래에서 보다 상세하게 제공되는 하나 이상의 추가 도메인, 및 C-말단을 함유할 수 있다. 개재 링커 펩타이드 (링커 1)는 경쇄 가변 도메인 (VL1 또는 VL2)을 중쇄 가변 도메인 (VH1 또는 VH2)으로부터 분리시킨다.

[0512] 특정 구체예에서, 본 발명의 Fc 함유 디아바디는 4개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하며, 도 1A에 도시된 일반적인 구조를 가지는 4개의 에피토프 결합 부위를 갖는 공유 결합된 4가 디아바디이다. 그러한 디아바디의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로: (i) VL1 함유 도메인, (ii) VH2 함유 도메인, (iii) 헤테로다имер 촉진 도메인 및 (iv) CH2-CH3 서열을 함유하는 도메인을 함유한다. 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: (i) VL2 함유 도메인, (ii) VH1 함유 도메인 및 (iii) 헤테로다имер 촉진 도메인을 함유하며, 헤테로다имер 촉진 도메인은 다이머화 및 제1/제3 폴리펩타이드 사슬의 제2/제4 폴리펩타이드 사슬과의 공유 결합을 촉진한다. VH 도메인은 시스테인 잔기를 포함할 수 있는 개재 링커 펩타이드 (링커 2)에 의해 헤테로다имер 촉진 도메인에 연결된다. 선택적으로, 또는 추가적으로 헤테로다имер 촉진 도메인은 시스테인 잔기를 포함할 수 있다. 대표적인 CD137 x TA 이중특이적 Fc 함유 디아바디 구체예에서, 제1 폴리펩타이드 사슬의 헤테로다имер 촉진 도메인의 C-말단은 개재 링커 펩타이드 (링커 3)에 의해 CH2-CH3 도메인에 연결된다. 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 VL 및/또는 VH 도메인, 및 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬의 VL 및/또는 VH 도메인은 단일특이적, 이중특이적 또는 사중특이적인 4가 결합을 허용하기 위해 동일하거나 상이할 수 있다. 아래의 표 3에서, "VL3" 및 "VH3"의 표기는, 각각, 그러한 디아바디의 "제3" 에피토프에 결합하는 경쇄 가변 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 나타낸다. 유사하게, "VL4" 및 "VH4"의 표기는, 각각, 그러한 디아바디의 "제4" 에피토프에 결합하는 경쇄 가변 도메인 및 가변 중쇄 도메인을 나타낸다. 발명의 대표적인 4개의-사슬 이중특이적 Fc 영역 함유 디아바디의 폴리펩타이드 사슬의 일반적인 구조는 표 3에 제공된다:

표 3

[0513]

표 3		
이중특이적	제2 사슬	NH ₂ -VL2-VH1- [⊙] -HPD-COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VL1-VH2- [⊙] -HPD- [⊙] -CH2-CH3-COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VL1-VH2- [⊙] -HPD- [⊙] -CH2-CH3-COOH
	제2 사슬	NH ₂ -VL2-VH1- [⊙] -HPD-COOH
사중특이적	제2 사슬	NH ₂ -VL2-VH1- [⊙] -HPD-COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VL1-VH2- [⊙] -HPD- [⊙] -CH2-CH3-COOH
	제3 사슬	NH ₂ -VL3-VH4- [⊙] -HPD- [⊙] -CH2-CH3-COOH
	제4 사슬	NH ₂ -VL4-VH3- [⊙] -HPD-COOH

[0514] (- ⊙ -는 1, 2, 또는 2개 이상의 시스테인 잔기를 가진 시스테인 함유 폴리펩타이드 도메인을 나타낸다. 표시는 예시적인 것으로 의도되며 비제한적이다. 시스테인 잔기는 헤테로다имер 촉진 도메인 (HPD) 내에 있는 것과 같이, 추가의 또는 대체 도메인에 존재할 수 있다)

[0515] 특정 구체예에서, 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 총 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되는 이중특이적, 4가 (즉, 4개의 에피토프 결합 부위를 가짐), Fc 함유 디아바디이다 (도 1A-1C). 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 CD137에 대해 면역특이적인 2개의 에피토프 결합 부위 (CD137의 동일한 에피토프 또는 CD137의 상이한 에피토프에 결합할 수 있음), 및 중앙 항원에 대해 면역특이적인 2개의 에피토프 결합 부위 (TA의 동일한 에피토프에 또

는 **TA**의 상이한 에피토프에 또는 상이한 **TA**의 상이한 에피토프에 결합할 수 있음)를 포함하는 이중특이적, 4가, Fc 함유 디아바디이다.

[0516] 추가의 구체예에서, 본 발명의 Fc 도메인 함유 디아바디는 3개의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 그러한 디아바디의 제1 폴리펩타이드는 종종 3개의 도메인: (i) VL1 함유 도메인, (ii) VH2 함유 도메인 및 (iii) CH2-CH3 서열을 함유하는 도메인을 함유한다. 그러한 디아바디의 제2 폴리펩타이드는 종종: (i) VL2 함유 도메인, (ii) VH1 함유 도메인 및 (iii) 디아바디의 제1 폴리펩타이드 사슬과의 헤테로다이머화 및 공유 결합을 촉진하는 도메인을 함유한다. 그러한 디아바디의 제3 폴리펩타이드는 종종 CH2-CH3 서열을 포함한다. 그러므로, 그러한 디아바디의 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬은 종종 함께 회합되어 제1 또는 제2 에피토프에 결합할 수 있는 VL1/VH1 에피토프 결합 도메인뿐만 아니라, 그러한 에피토프의 다른 것과 결합할 수 있는 VL2/VH2 에피토프 결합 도메인을 형성한다. 제1 및 제2 폴리펩타이드는 종종 그들의 각각의 제3 도메인에 시스테인 잔기를 포함하는 이황화 결합을 통하여 서로 결합된다. 특히, 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 종종 이황화 결합을 통해 안정화된 Fc 도메인을 형성하기 위하여 서로 복합체를 형성한다. **도 1D**는 그러한 디아바디의 대표적인 구조를 도시한다.

[0517] 상기 구체예의 각각의 구체예에서, 제1 폴리펩타이드 사슬의 경쇄 가변 도메인 (**VL1**)은 제2 폴리펩타이드 사슬의 중쇄 가변 도메인 (**VH1**)과 상호작용하고 그로써 제1 항원 (즉, **TA** 또는 CD137)의 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 기능성 에피토프 결합 부위를 형성하는 것을 허용하기 위해 조정적으로 선택된다. 마찬가지로, 제2 폴리펩타이드 사슬의 경쇄 가변 도메인 (**VL2**)은 제1 폴리펩타이드 사슬의 중쇄 가변 도메인 (**VH2**)과 상호작용하고 그로써 제2 항원 (즉, **TA** 또는 CD137)의 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 기능성 에피토프 결합 부위를 형성하는 것을 허용하기 위해 조정적으로 선택된다. 그러므로, 경쇄 가변 도메인 및 중쇄 가변 도메인의 선택은 조정적이어서, 2개의 폴리펩타이드 사슬은 종합적으로 CD137 및 **TA**에 결합할 수 있는 에피토프 결합 부위를 포함한다.

[0518] 본 발명의 추가적인 Fc 함유 디아바디는 5개의 폴리펩타이드 사슬을 포함하며, **도 2**에 도시된다. 그러한 디아바디의 제1 폴리펩타이드 사슬은: (i) VH1 함유 도메인, (ii) CH1 함유 도메인, 및 (iii) CH2-CH3 서열을 함유하는 도메인을 함유한다. 제1 폴리펩타이드 사슬은 VH1 및 중쇄 불변 영역을 함유하는 항체의 중쇄일 수 있다. 그러한 디아바디의 제2 및 제5 폴리펩타이드 사슬은: (i) VL1 함유 도메인, 및 (ii) CL 함유 도메인을 함유한다. 그러한 디아바디의 제2 및/또는 제5 폴리펩타이드 사슬은 제1/제3 폴리펩타이드 사슬의 VH1에 상보하는 VL1을 함유하는 항체의 경쇄일 수 있다. 제1, 제2 및/또는 제5 폴리펩타이드 사슬은 자연적으로 발생하는 항체로부터 분리될 수 있다. 대안으로, 그것은 재조합에 의해 구성될 수 있다. 한 구체예에서, 제2 및 제5 폴리펩타이드 사슬은 동일한 아미노산 서열을 가진다. 그러한 디아바디의 제3 폴리펩타이드 사슬은: (i) VH1 함유 도메인, (ii) CH1 함유 도메인, (iii) CH2-CH3 서열을 함유하는 도메인, (iv) VL2 함유 도메인, (v) VH3 함유 도메인 및 (vi) 헤테로다이머 촉진 도메인을 함유하며, 헤테로다이머 촉진 도메인은 제3 사슬의 제4 사슬과의 다이머화를 촉진한다. 그러한 디아바디의 제4 폴리펩타이드는: (i) VL3 함유 도메인, (ii) VH2 함유 도메인 및 (iii) 디아바디의 제3 폴리펩타이드 사슬과의 헤테로다이머화 및 공유 결합을 촉진하는 도메인을 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 VH3- 및 VH2 함유 도메인의 C-말단은 개재 링커 펩타이드 (**링커 2**)에 의해 헤테로다이머 촉진 도메인에 연결되고 제3 폴리펩타이드 사슬의 CH2-CH3 도메인의 C-말단은 개재 링커 펩타이드 (**링커 4**)에 의해 VL2 함유 도메인에 연결된다.

[0519] 그러므로, 그러한 디아바디의 제1 및 제2, 및 제3 및 제5 폴리펩타이드 사슬은 함께 회합하여 제1 에피토프에 결합할 수 있는 2개의 VL1/VH1 결합 부위를 형성한다. 그러한 디아바디의 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 함께 회합하여 제2 에피토프에 결합할 수 있는 VL2/VH2 결합 부위뿐만 아니라, 제3 에피토프에 결합할 수 있는 VL3/VH3 결합 부위를 포함하는 하나의 디아바디 결합 도메인을 형성한다. 제1 및 제3 폴리펩타이드는 그들의 각각의 불변 영역에 시스테인 잔기를 포함하는 이황화 결합을 통하여 서로 결합된다. 특히, 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 서로 복합체를 이루어 Fc 영역을 형성한다. 그러한 이중특이적 디아바디는 증강된 효능을 가진다. **도 2**는 그러한 디아바디의 구조를 도시한다. VL1/VH1, VL2/VH2, 및 VL3/VH3 도메인은 단일특이적, 이중특이적 또는 삼중특이적인 결합을 허용하기 위하여 동일하거나 상이할 수 있는 것이 이해될 것이다. 그러나, 본원에서 제공되는 바, 이들 도메인은 CD137 및 **TA**에 결합하도록 선택된다.

[0520] 폴리펩타이드 사슬의 VL 및 VH 도메인은 원하는 에피토프에 특이적인 VL/VH 결합 부위를 형성하도록 선택된다. 폴리펩타이드 사슬의 회합에 의해 형성된 VL/VH 결합 부위는 단일특이적, 이중특이적, 삼중특이적 또는 사중특이적인 4가 결합을 허용하도록 동일하거나 상이할 수 있다. 특히, VL 및 VH 도메인은 이중특이적 디아바디가 제1 에피토프에 대한 2개의 결합 부위 및 제2 에피토프에 대한 2개의 결합 부위, 또는 제1 에피토프에 대한 3개의

결합 부위 및 제2 에피토프에 대한 1개의 결합 부위, 또는 제1 에피토프에 대한 2개의 결합 부위, 제2 에피토프에 대한 1개의 결합 부위 및 제3 에피토프에 대한 1개의 결합 부위를 포함할 수 있도록 선택될 수 있다 (도 2에 도시된 것과 같음). 발명의 대표적인 5-사슬 Fc 영역 함유 디아바디의 폴리펩타이드 사슬의 일반적인 구조가 표 4에 제공된다:

표 4

[0521]

표 4		
이중특이적 (2x2)	제2 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-COOH
	제3 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-VL2-VH2- [⊖] -HPD-COOH
	제5 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제4 사슬	NH ₂ -VL2-VH2- [⊖] -HPD-COOH
이중특이적 (3x1)	제2 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-COOH
	제3 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-VL1-VH2- [⊖] -HPD-COOH
	제5 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제4 사슬	NH ₂ -VL2-VH1- [⊖] -HPD-COOH
삼중특이적 (2x1x1)	제2 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제1 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-COOH
	제3 사슬	NH ₂ -VH1-CH1- [⊖] - [⊖] -CH2-CH3-VL2-VH3- [⊖] -HPD-COOH
	제5 사슬	NH ₂ -VL1-CL- [⊖] -COOH
	제4 사슬	NH ₂ -VL3-VH2- [⊖] -HPD-COOH

[0522]

(-[⊖]-는 1, 2, 또는 2개 이상의 시스테인 잔기를 가진 시스테인 함유 폴리펩타이드 도메인을 표시한다. 표시는 예시적이고 비제한적인 것으로 의도된다. 시스테인 잔기는 추가적인 또는 대체 도메인, 예컨대 헤테로다이어머 축진 도메인 (HPD) 내에 존재할 수 있다)

[0523]

특정 구체예에서, 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 CD137에 대해 면역특이적인 2개의 에피토프 결합 부위 (CD137의 동일한 에피토프 또는 CD137의 상이한 에피토프에 결합할 수 있음), 및 **TA**에 대해 면역특이적인 2개의 에피토프 결합 부위 (**TA**의 동일한 에피토프 또는 **TA**의 상이한 에피토프 또는 상이한 **TA**의 상이한 에피토프에 결합할 수 있음)를 가지는 총 5개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된 이중특이적, 4가 (즉, 4개의 에피토프 결합 부위를 가짐), Fc 함유 디아바디이다. 또 다른 구체예에서, 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 CD137에 대해 면역특이적인 3개의 에피토프 결합 부위 (CD137의 동일한 에피토프 또는 CD137의 2개 또는 3개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있음), 및 **TA**에 대해 특이적인 1개의 에피토프 결합 부위를 포함하는 이중특이적, 4가, Fc 함유 디아바디이다.

[0524]

2. 3가 CD137 x TA 결합 분자

[0525]

한 구체예에서, 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 3가이고 제1 에피토프 결합 부위 (예컨대, VL1 및 VH1), 제2 에피토프 결합 부위 (예컨대, VL2 및 VH2), 및 제3 에피토프 결합 부위 (예컨대, VL3 및 VH3)를 포함할 것이며, 그러므로 **TA**의 에피토프, CD137의 에피토프, 및 제3 에피토프에 결합할 수 있을 것이고, 제3 에피토프는:

[0526]

(a) **TA**의 동일한 또는 상이한 에피토프;

[0527]

(b) CD137의 동일한 또는 상이한 에피토프; 또는

[0528]

(c) 상이한 **TA**의 에피토프일 수 있다.

[0529]

특정 구체예에서, 본 발명의 그러한 "3가 **CD137 x TA 결합 분자**"는 CD137의 에피토프 (에피토프는 동일하거나 상이할 수 있음)에 대한 2개의 에피토프 결합 부위, 및 **TA**의 에피토프에 대한 1개의 에피토프 결합 부위를 포함할 것이다.

[0530]

일반적으로, 본 발명의 그러한 3가 **CD137 x TA 결합 분자**는 3, 4, 5개 또는 5개 이상의 폴리펩타이드 사슬로 구

성되며, 이들은 그러한 폴리펩타이드의 쌍 사이의 하나 이상의 이황화 결합에 의해, "디아바디형 결합 도메인" 및 "비-디아바디형 결합 도메인"을 포함하는 공유 결합된 분자 복합체를 형성한다.

[0531] "디아바디형 결합 도메인"은 디아바디, 특히, DART® 디아바디의 에피토프 결합 도메인이다. 용어 "디아바디" 및 "DART® 디아바디"는 위에서 논의되었다. "비-디아바디형 결합 도메인"은 디아바디형 결합 도메인의 구조를 갖지 않는 결합 도메인을 나타내는 것으로 의도된다. 전형적으로, 비-디아바디형 결합 도메인은 Fab형 결합 도메인 또는 ScFv형 결합 도메인이다. 본원에서 사용되는 바, 용어 "Fab형 결합 도메인"은 면역글로불린 경쇄의 VL 도메인과 면역글로불린 중쇄의 상보하는 VH 도메인의 상호작용에 의해 형성되는 에피토프 결합 도메인을 나타낸다. Fab형 결합 도메인은, Fab형 결합 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩타이드 사슬이 단지 하나의 에피토프 결합 도메인을 포함하는 반면, 디아바디형 결합 도메인을 형성하는 2개의 폴리펩타이드 사슬은 적어도 2개의 에피토프 결합 도메인을 포함한다는 점에서 디아바디형 결합 도메인과 상이하다. ScFv형 결합 도메인은 동일한 폴리펩타이드 사슬의 VL 및 VH 도메인이 상호작용하여 에피토프 결합 도메인을 형성한다는 점에서 디아바디형 결합 도메인과 상이하다. 그러므로, 본원에서 사용되는 바, Fab형 결합 도메인 및 ScFv형 결합 도메인은 디아바디형 결합 도메인과는 구별된다.

[0532] 그러므로, 본 발명의 3가 CD137 x TA 결합 분자는:

[0533] (I) "제1" 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 "제1" 에피토프 결합 도메인;

[0534] (II) "제2" 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 "제2" 에피토프 결합 도메인;

[0535] (III) "제3" 에피토프에 면역특이적으로 결합할 수 있는 "제3" 에피토프 결합 도메인; 및

[0536] (IV) 2개의 CH2-CH3 도메인의 서로에 대한 회합에 의해 형성된 Fc 도메인을 포함하고;

[0537] 여기서:

[0538] (A) "제1" 에피토프 결합 도메인 및 "제2" 에피토프 결합 도메인은 둘 다 "디아바디형 결합 도메인"이며;

[0539] (B) "제3" 에피토프 결합 도메인은 비-디아바디형 결합 도메인이고;

[0540] (C) 그러한 "제1", "제2", 또는 "제3" 에피토프 결합 도메인 중 하나는 TA의 에피토프에 결합하며, 또 다른 그러한 "제1", "제2", 또는 "제3" 에피토프 결합 도메인은 CD137의 에피토프에 결합한다.

[0541] 남아 있는 에피토프 결합 도메인에 의해 결합된 에피토프는 임의의 원하는 에피토프, 예를 들어, CD137의 에피토프일 수 있다. 그러한 에피토프는 분자의 다른 에피토프 결합 도메인에 의해 결합된 CD137 에피토프와 동일하거나 상이할 수 있다.

[0542] 도 3A-3C는 대표적인 3가 CD137 x TA 결합 분자의 도메인의 도식적 표현을 제공한다. 도 3A는 4개의 폴리펩타이드 사슬의 공유 복합체 형성으로부터 구성되고 하나의 비-디아바디형 결합 부위 (VL3/VH3, 그로써 그러한 에피토프에 대해 1가가 됨), 및 2개의 디아바디형 결합 부위 (VL1/VH1 및 VL2/VH2, 그로써 그러한 에피토프의 각각에 대해 1가가 됨)를 가지는 대표적인 3가 CD137 x TA 결합 분자의 도메인을 도식적으로 예시한다. 도 3B-3C는 3개의 폴리펩타이드 사슬의 공유 복합체 형성으로부터 구성되고 하나의 비-디아바디형 결합 부위 (VL3/VH3, 그로써 그러한 에피토프에 대해 1가가 됨), 및 2개의 디아바디형 결합 부위 (VL1/VH1 및 VL2/VH2, 그로써 그러한 에피토프의 각각에 대해 1가가 됨)를 가지는 대표적인 3가 CD137 x TA 결합 분자의 도메인을 도식적으로 예시한다. 비-디아바디형 결합 부위는 도 3A-3B에서 Fab형 결합 도메인이고 도 3C에서 scFv형 결합 도메인이다. 아래에 제공되는 것과 같이, 폴리펩타이드 사슬의 회합에 의해 형성된 VL/VH 결합 부위는 단일특이적, 이중특이적, 또는 삼중특이적인 3가 결합을 허용하도록 동일하거나 상이할 수 있다.

[0543] II. 대표적인 CD137 x TA 결합 분자

[0544] 발명은 CD137 및 TA에 동시에 및 특이적으로 결합할 수 있는 이중특이적 4가 Fc 디아바딘 CD137 x TA 결합 분자를 제공한다. 위에서 타나낸 것과 같이, 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자는 3, 4 또는 5개의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. CD137 및 TA, PD-L1 또는 HER2에 결합할 수 있는 대표적인 CD137 x TA 결합 분자의 폴리펩타이드 사슬이 아래에 제공된다 ("DART-A", "DART-A1", "DART-A2", "DART-A3", "DART-A4", "DART-A5", "DART-A6", "DART-A7", "DART-A8", "DART-A9", "DART-A10", "DART-B1", 및 "DART-B2"로 표시됨). 발명은 추가로 CD137 및 TA에 동시에 및 특이적으로 결합할 수 있는 이중특이적 3가 결합 분자인 CD137 x TA 결합 분자를 제공한다. 위에서 타나낸 것과 같이, 본 발명의 3가 CD137 x TA 결합 분자는 4개의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 대표적인 3가 CD137 x TA 결합 분자의 폴리펩타이드 사슬은 CD137 및 TA, PD-L1, 또는 HER2에 결합할 수

있다 ("TRIDENT-A", "TRIDENT-A4", "TRIDENT-A5", "TRIDENT-A6", "TRIDENT-B1", "TRIDENT-B1"로 표시됨).

[0545] A. 4가 CD137 x TA 결합 분자

[0546] 1. DART-A

[0547] DART-A는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가지는 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중에서 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 동일하다 (도 1B 참고). DART-A는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(1.1)의 결합 도메인을 포함한다.

[0548] DART-A의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39)), 링커 (LEPKSADKTHTCPAP (서열 번호:30)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인 (서열 번호:43, X는 없음), 및 C-말단을 포함한다.

[0549] 그러므로, DART-A의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성된다.

[0550] DART-A의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:116)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGRDVT ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFGSGSGGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYNTPLTFGQ
GTKVEIKGGG SGGGGQVQLQ ESGPGLVKPS ETLSLTCTVS GGSISSYYWS
WIRQPPGKGL EWIGRIYTSG STNYPNLSLKS RVTMSVDTSK NQFSLKLSSV
TAADTAVYYC ARDGYDEDEDY NYYGMDVWGQ GTTQVTVSSGG CGGGEVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKLEPKSADK THTCPAPAP EAAGGSPSVFL
FPPKPKDTLY ITREPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ
PREPQVYTLF PSREEMTKNQ VSLTCLVKGK YPSDIAVEWE SNGQPENNYK
TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMEAL HNHYTQKSL
LSPG
```

[0551] [0552] 시스템인 잔기가 없는 헤테로다이머 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37))을 포함하는 대체 DART-A 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 그러한 대체 DART-A 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성된다. 서열 번호:58 (hPD-L1 MAB-2 VL1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:72 (hPD-L1 MAB-2 VL2)의 아미노산 잔기로 대체되는 추가의 대체 DART-A 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 많은 그러한 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 대체 분자가 아래에서 기술된다.

[0553] DART-A의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VH1, 서열 번호:57)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKK-EKVAALKE-EKVAALKE-EKVAALKE (서열 번호:40)), 및 C-말단을 포함한다.

[0554] 그러므로, DART-A의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:57 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0555] DART-A의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:117)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSRLRSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIG GGTYYPTDV KGRFTISRDN AKNTLYLQMN
SLKTEDTAVY YCARQGLPYY FDYWGQGLV TVSSGGCGGG KVAACCKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0556]

[0557] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (K-코일) 도메인 (예컨대, KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. DART-A의 그러한 대체 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:57 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다. 서열 번호:50 (CD137 MAB-6 VL1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:55 (CD137 MAB-6 VL2), 또는 서열 번호:56 (CD137 MAB-6 VL3)의 아미노산 잔기로 대체되어 있거나, 및/또는 서열 번호:57 (hPD-L1 MAB-2 VH1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:67 (hPD-L1 MAB-2 VH2), 서열 번호:68 (hPD-L1 MAB-2 VH3), 서열 번호:69 (hPD-L1 MAB-2 VH4), 서열 번호:70 (hPD-L1 MAB-2 VH5), 또는 서열 번호:72 (hPD-L1 MAB-2 VH6)의 아미노산 잔기로 대체되는 추가의 대체 DART-A 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 대안으로, PD-L1 VL/VH 도메인은 PD-L1의 상이한 에피토프에 결합하거나 상이한 TA에 결합하는 TA 결합 분자의 VL/VH 도메인으로 대체될 수 있다. 많은 그러한 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 대체 분자가 아래에서 기술된다.

[0558] 2. DART-A1

[0559] DART-A1은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가지는 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A1은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A1은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(2.1)의 결합 도메인을 포함한다.

[0560] DART-A1의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GGCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAACEK-EVAALKE-EVAALKE-EVAALKE (서열 번호:39)), 링커 (LEPKSADKTHTCPPCP (서열 번호:30)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인 (서열 번호:43), 및 C-말단을 포함한다.

[0561] 그러므로, DART-A1의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성된다.

[0562] DART-A1의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:118)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDVRT ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ HYNTPPLTFGQ
GTKVEIKGGG SGGGGQVQLQ ESGPGLVKPS ETLSLTCTVS GGSISSYYWS
WIRQPPGKGL EWIGRIYTSG STNYPNPSLKS RVTMSVDTSK NQFSLKLSSV
TAADTAVYYC ARDGYDEDEY NYYGMDVWGQ GTT1TVTVSSG CGGGEVAACE
KEVAALKEKEV AALEKEVAAL EKLEPKSADK THTCPPCPAP EAAGGPSVFL
FPPKPKDTLY ITREPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ
PREPQVYTLPS PREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK
TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FCSVMHEAL HNHYTQKSLS
LSPGK
```

[0563]

[0564] DART-A1의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VH2, 서열 번호:67)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GGCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (K-코일) 도메인

(~~KVAACK~~E-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~ (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0565] 그러므로, DART-A1의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:67 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0566] DART-A1의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:119)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIG GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARQGLPYY FDYWGQGLTV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0567]

[0568] 시스템인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~ (서열 번호:37) 및 ~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~ (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A1 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A1 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A1 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:67 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0569] 3. DART-A2

[0570] DART-A2는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A2는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참조). DART-A2는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(2.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0571] DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (E-코일) 도메인 (~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~ (서열 번호:39)), 링커 (LEPKSADKTHTCPPCP (서열 번호:30)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인 (서열 번호:43), 및 C-말단을 포함한다.

[0572] 그러므로, DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성된다.

[0573] DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:120)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVIT ITCKASQDVN EAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQPED FATYTCQQ HYNTPLTFGQ
GTKVEIKGGG SGGGGQVQLQESGPGLVKPS ETLTSLTCTVS GGSISSYYWS
WIRQPPGKGL EWIGRIYTSSTNYPNPSLKS RVTMSVDTSK NQFSLKLSV
TAADTAVYYC ARDGYDEDEY NYYGMDVWGQ GTTVTVSSGG CGGGEVAACE
KEVAALKEKVAALKEKVAAL EKLEPKSADK THTCPPCPAP EAAGGPSVFL
FPPKPKDTLY ITREPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ
PREPQVYTLPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK
TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FCSVMHEAL HNHYTQKSL
LSPGK
```

[0574]

[0575] DART-A2의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 DART-A1의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:119)과 동일하다.

[0576] 시스템인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~-~~EVAAL~~E~~K~~ (서열 번호:37) 및 ~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~-~~KVAAL~~K~~E~~ (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A2 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A2 제1/제3

폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A2 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:67 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0577] 4. DART-A3

[0578] DART-A3은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A3은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A3은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(3.1)의 결합 도메인을 포함한다.

[0579] DART-A3의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A1의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:118)과 동일하다.

[0580] DART-A3의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH3, 서열 번호:68)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0581] 그러므로, DART-A3의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0582] DART-A3의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:121)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQOI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIK GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARQGLPYY GDIWVGQTLV TVSSGGCGGG KVAACKKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0583] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A3 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A3 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A3 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0585] 5. DART-A4

[0586] DART-A4는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A4는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A4는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0587] DART-A4의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0588] DART-A4의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 DART-A3의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:121)과 동일하다.

[0589] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A4 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A4 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A4 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0590] 6. DART-A5

[0591] DART-A5는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A5는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참조). DART-A5는 CD137 MAB-6(1.2) 및 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0592] DART-A5의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0593] DART-A5의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH2, 서열 번호:68)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0594] 그러므로, DART-A5의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:55 — 서열 번호 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0595] DART-A5의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:122)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWYQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIK GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARQGLPYY GDYWGQGLTV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0596] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A5 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A5 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A5 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0598] 7. DART-A6

[0599] DART-A6은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A6은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참조). DART-A6은 CD137 MAB-6(1.3) 및 hPD-L1 MAB -2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0600] DART-A6의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0601] DART-A6의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH3, 서열 번호:68)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0602] 그러므로, DART-A6의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0603] DART-A6의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:123)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIK GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARQGLPYY GDYWGQGLV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0604]

[0605] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호:37) 및 ~~KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A6 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A6 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A6 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0606] 8. DART-A7

[0607] DART-A7은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A7은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A7은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(4.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0608] DART-A7의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0609] DART-A7의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH4, 서열 번호:69)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (K-코일) 도메인 (~~KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호:40)), 및 C-말단을 포함한다.

[0610] 그러므로, DART-A7의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0611] DART-A7의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:124)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIG GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARAGLPYY FDYWGQGLV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0612]

[0613] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호:37) 및 ~~KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A7 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A7 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A7 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0614] 9. DART-A8

[0615] DART-A8은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A8은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A8은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(5.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0616] DART-A8의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

다.

[0617] DART-A8의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH5, 서열 번호:70)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0618] 그러므로, DART-A8의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 *ID NO:16 — 서열 번호:70 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0619] DART-A8의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:125)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIK GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARAGLPYY FDYWGQGLV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0620]

[0621] 시스템인 잔기가 없는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A8 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A8 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A8 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:70 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0622] 10. DART-A9

[0623] DART-A9는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A9는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참조). DART-A9는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(6.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0624] DART-A9의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0625] DART-A9의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH6, 서열 번호:71)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0626] 그러므로, DART-A9의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:71 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0627] DART-A9의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:126)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIG GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARAGLPYY GDYWGQGLV TVSSGGCGGG KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0628]

[0629] 시스템인 잔기가 없는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-A9 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A9 제1/제3

폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A9 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:71 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0630] 11. DART-A10

[0631] DART-A10은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-A10은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 3B 참고). DART-A10은 CD137 MAB-6(1.3) 및 hPD-L1 MAB-2(4.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0632] DART-A10의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 DART-A2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:120)과 동일하다.

[0633] DART-A10의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1} (hPD-L1 MAB-2 VH4, 서열 번호:69)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACKK-KVAALKK-KVAALKK-KVAALKK (서열 번호:40), 및 C-말단을 포함한다.

[0634] 그러므로, DART-A10의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0635] DART-A10의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:139)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGEVQL VESGGGLVQP GGSLRLSCAA SGFTFSSYTM
SWVRQAPGKG LEWVAYISIG GGTTYYPDTV KGRFTISRDN AKNSLYLQMN
SLRAEDTAVY YCARAGLPYY FDYWGQGLTV TVSSGGCGGG KVAACKKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE
```

[0636] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37) 및 KVAALKK-KVAALKK-KVAALKK-KVAALKK (서열 번호:38)을 포함하는 대체 DART-A10 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-A10 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-A10 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다

[0638] 12. DART-B1

[0639] DART-B1은 1개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 HER2에 대한 1개의 결합 부위를 가진 2가 CD137 x TA 결합 분자이다. DART-B1은 3개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 제1, 제2, 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 상이하다 (도 1D 참고). DART-B1은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hHER2 MAB-1(1.3)의 결합 도메인을 포함한다.

[0640] DART-B1의 제1 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{HER2} (hHER2 MAB-1 VH1, 서열 번호:80)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다имер 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37)), 개재 링커 펩타이드 (GGGDKTHTCPPCP (서열 번호:21)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 "손잡이 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:146), 및 C-말단을 포함한다.

[0641] 그러므로, DART-B1의 제1 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성된다.

[0642] DART-B1의 제1 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:143)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYQC QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL VQSGAEVKKP GASVKVSCA SGYTFTNYGM
NWVRQAPGQG LEWGMWINTN IGEPTYTEEF KGRVTMTRDT SISTAYMELS
RLRSDDTAVY YCARDGYN RVSYWGQTL VTVSSGGCGG GEVAALEKEV
AALEKEVAAL EKEVAALEKG GGDKTHTCPP CPAPEAAGP SVFLFPPKPK
DTLYITREPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
YTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
```

[0643]

[0644] DART-B1의 제2 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{HER2} (hHER2 MAB-1 VL3, 서열 번호:85)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이어 축진 (K-코일) 도메인 (KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38)), 및 C-말단을 포함한다.

[0645]

그러므로, DART-B1의 제2 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0646]

DART-B1의 제2 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:144)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDIS NYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCLQ HDEFPWTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLQ ESGPGLVKPS ETLTCTVS GGSISSYYWS
WIRQPPGKGL EWIGRIYTSG STNYPNPSLKS RVTMSVDTSK NQFSLKLSV
TAADTAVYIC ARDGWYDEDY NYYGMDVWGQ GTTPTVSSGG CGGGKVAALK
EKVAALKEKV AALKEKVAAL KE
```

[0647]

[0648] DART-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, 링커 DKTHTCPPCP (서열 번호:20) 및 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/H435R 치환을 포함하는 "구멍 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:149)을 포함한다.

[0649]

그러므로 DART-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:20 - 서열 번호:149로 구성된다.

[0650]

인지되는 바, DART-B의 제3 폴리펩타이드 사슬은 임의의 에피토프 결합 도메인을 함유하지 않으며 따라서 도 1D에 도시된 디아바디 구조를 가지는 다양한 CD137 x TA 결합 분자에 사용될 수 있다.

[0651]

DART-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:145의 아미노산 서열을 가진다:

```
DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLSCAVK
GFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKL TVDKSRWQQG
NVFSCSVMHE ALHNRYTQKS LSLSPGK
```

[0652]

[0653] 13. DART-B2

[0654]

DART-B2는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA, HER2에 대한 2개의 결합 부위를 가진 4가 CD137 x CD137 x TA x TA 결합 분자이다. DART-B2는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성되며, 그 중 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬이 동일하고 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 동일하다 (도 1B 참고). DART-B1은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hHER2 MAB-1(1.3)의 결합 도메인을 포함한다.

[0655]

DART-B2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{HER2} (hHER2 MAB-1 VL3, 서열 번호:85)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이어 축진 (E-코일) 도메인

(~~EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호:39)), 링커 (LEPKSADKTHTCPAP (서열 번호:30)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 대표적인 인간 IgG1의 CH2-CH3 도메인 (서열 번호:43, X는 없음), 및 C-말단을 포함한다.

[0656] 그러므로, DART-B2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성된다.

[0657] DART-B2의 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:151)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRTV ITCKASQDIS NYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLQSGVPS RFGSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HDEFPWTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLQ ESGPGLVKPS ETLSLTCTVS GGSISSYYWS
WIRQPPGKGL EWIGRIYTSG STNYPNPSLKS RVTMSVDTSK NQFSLKLSV
TAADTAVYYC ARDGYDEDEY NYYGMDVWGQ GTTQTVSSGG CGGGEVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKLEPKSADK THTCPAPAP EAAGGPSVFL
FPPKPKDTLY ITREPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR
EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ
PREPQVYTLF PSREEMTKNQ VSLTCLVKGK YPSDIAVEWE SNGQPENNYK
TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FCSVMHEAL HNHYTQKSL
LSPGK
```

[0658]

[0659] DART-B2의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137} (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1: GGGSGGGG (서열 번호:16)), HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{HER2} (hHER2 MAB-1 VH1, 서열 번호:80)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2: GGCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40)), 및 C-말단을 포함한다.

[0660] 그러므로, DART-B2의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0661] DART-B2의 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:152)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGKTKVEIKGG GSGGGQVQL VQSGAEVKKP GASVKVSCKA SGYTFNYGM
NWRQAPGQG LEWMGWINTN IGEPTYTEEF KGRVTMTRDT SISTAYMELS
RLRSDDTAVY YCARDGYN RVSYWGQGT VTVSSGGCGG GKVAACEKV
AALKEKVAAL KEKVAALKE
```

[0662]

[0663] 시스테인 잔기가 없는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호:37) 및 ~~KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호:38))을 포함하는 대체 DART-B2 제1/제3 및 제2/제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 DART-B2 제1/제3 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43으로 구성되고, 그러한 대체 DART-B2 제2/제4 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0664] B. 3가 CD137 x TA 결합 분자

[0665] 1. TRIDENT-A

[0666] TRIDENT-A는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 1개의 결합 부위를 가진 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-A는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL2/VH2 (부위 B)와 동일하고 CD137에 결합하며, VL3/VH3 (부위 C)은 PD-L1에 결합한다). TRIDENT-A는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(1.1)의 결합 도메인을 포함한다.

[0667] TRIDENT-A의 제1 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1: GGGSGGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2: GGCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (E-코일) 도메인 (~~EVAALEK-EVAALEK-~~

EVAALKE-EVAALEK (서열 번호:37)), 개재 링커 펩타이드 (GGGDKHTCPPCP (서열 번호:21)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 "손잡이 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:146), 및 C-말단을 포함한다.

[0668] 그러므로, TRIDENT-A의 제1 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성된다.

[0669] TRIDENT-A의 제1 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:127)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGEVAAL
EKEVAALEKE VAALKEKVAAL LEKGGGDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGK
```

[0670]

[0671] TRIDENT-A의 제2 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38)), 및 C-말단을 포함한다.

[0672] 그러므로, TRIDENT-A의 제2 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0673] TRIDENT-A의 제2 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:128)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLTPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQI PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGKVAAL
KEKVAALKEK VAALKEKVAAL LKE
```

[0674]

[0675] 시스템인 잔기를 포함하는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39) 및 KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40))을 포함하는 대체 TRIDENT-A 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 그러한 대체 TRIDENT-A 분자에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다. 서열 번호:50 (CD137 MAB-6 VL1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:55 (CD137 MAB-6 VL2), 또는 서열 번호:56 (CD137 MAB-6 VL3)의 아미노산 잔기로 대체되는 추가의 대체 TRIDENT-A 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 또한 하나의 CD137 VL/VH 도메인 쌍이 TA 결합 분자의 VL/VH 쌍으로 대체될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 많은 그러한 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 대체 분자가 아래에서 기술된다.

[0676] TRIDENT-A의 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57)), 인간 IgG1 CH1 도메인 (서열 번호:3), 인간 IgG1 힌지 영역 (서열 번호:7), 및 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/H435R 치환을 포함하는 "구멍 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:149)을 포함한다.

[0677] 그러므로, TRIDENT-A의 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:57 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149로 구성된다.

[0678] TRIDENT-A의 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:129)이다:

```
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIGGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNTLY LQMNSLKTED TAVYYCARQG
LPYYFDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI
CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDKTHTCPPC PAPEAAGGPS VFLFPPKPKD
TLYITREPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY
TLPPSREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD
SDGSFFLVSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNRYTQK SLSLSPGK
```

[0679]

[0680] TRIDENT-A의 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-1 VL1 (서열 번호:58)), 인간 IgG CL 카파 도메인 (서열 번호:1), 및 C-말단을 포함한다.

[0681] 그러므로, TRIDENT-A의 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:69 — 서열 번호:1로 구성된다.

[0682] TRIDENT-A의 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:130)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFGSGSGTD FTLTISLQF EDFATYYCQQ HYNTPITFGQ
GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY BREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEK
```

[0683]

[0684] 서열 번호:57 (hPD-L1 MAB-2 VH1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:67 (hPD-L1 MAB-2 VH2), 서열 번호:68 (hPD-L1 MAB-2 VH3), 서열 번호:69 (hPD-L1 MAB-2 VH4), 서열 번호:70 (hPD-L1 MAB-2 VH5), 또는 서열 번호:72 (hPD-L1 MAB-2 VH6)의 아미노산 잔기로 대체되거나, 및/또는 서열 번호:58 (hPD-L1 MAB-2 VL1)의 아미노산 잔기가 서열 번호:72 (hPD-L1 MAB-2 VL2)의 아미노산 잔기로 대체되는 대체 TRIDENT-A 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있다. 대안으로, PD-L1 VL/VH 도메인은 PD-L1의 상이한 에피토프에 결합하거나 상이한 TA에 결합하는 TA 결합 분자의 VL/VH 도메인으로 대체될 수 있다. 또한 TA 결합 부위는 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬의 회합에 의해 형성되고, 제3 및 제4 폴리펩타이드 사슬의 VL/VH 도메인은 본원에 제공된 임의의 CD137 MAB-6 VL/VH 도메인으로 대체될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 여러 개의 그러한 폴리펩타이드 사슬을 포함하는 대체 분자가 아래에서 기술된다.

[0685] 2. TRIDENT-A4

[0686] TRIDENT-A4는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 1개의 결합 부위를 가진 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-A4는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL2/VH2 (부위 B)와 동일하며 CD137에 결합하고, VL3/VH3 (부위 C)은 PD-L1에 결합한다). TRIDENT-A4는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0687] TRIDENT-A4의 제1 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A의 제1 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:127)과 동일하다.

[0688] TRIDENT-A4의 제2 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A의 제2 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:128)과 동일하다.

[0689] 시스테인 잔기를 포함하는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, ~~EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK~~ (서열 번호:39) 및 ~~KVAACKK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE~~ (서열 번호:40)). 대체 TRIDENT-A4 제1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 TRIDENT-A4 분자에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0690] TRIDENT-A4의 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)), 인간 IgG1 CH1 도메인 (서열 번호:3), 인간 IgG1 힌지 영역 (서열 번호:7), 및 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/H435R 치환을 포함하는 "구멍 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:149)을 포함한다.

[0691] 그러므로, TRIDENT-A4의 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:68 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149로 구성된다.

[0692] TRIDENT-A4의 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:131)이다:

```
EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYTMSWVRQA PGKGLEWVAY
ISIKGGTTY PDTVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARQG
LPYYGDYWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVTVTP SSSLGTQTYI
CNVNHKPSNT KVDKRVEPKS CDKTHTCPPC PAPEAAGGPS VFLFPPKPKD
TLYITREPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY
TLPPSREEMT KNQVSLSCAV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD
SDGSFFLVSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNRVTQK SLSLSPGK
```

[0693]

[0694] TRIDENT-A4의 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, PD-L1에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{PD-L1}) (hPD-L1 MAB-1 VL2 (서열 번호:72)), 인간 IgG CL 카파 도메인 (서열 번호:1), 및 C-말단을 포함한다.

[0695] 그러므로, TRIDENT-A4의 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:72 — 서열 번호:1로 구성된다.

[0696] TRIDENT-A4의 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:132)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGRVIT ITCKASQDVN EAVAWYQQKPK GKAPKLLIYW
ASTRHTGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYNTPITFGQ
GTKVEIKRTV AAPSVEFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEK
```

[0697]

[0698] 3. TRIDENT-A5

[0699] TRIDENT-A5는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 1개의 결합 부위를 가지는 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-A5는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL2/VH2 (부위 B)와 동일하며 CD137에 결합하고, VL3/VH3 (부위 C)은 PD-L1에 결합한다). TRIDENT-A5는 CD137 MAB-6(1.2) 및 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0700] TRIDENT-A5의 제1 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37)), 개재 링커 펩타이드 (GGGDKTHTCPPC (서열 번호:21)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 "손잡이 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:146), 및 C-말단을 포함한다.

[0701] 그러므로, TRIDENT-A5의 제1 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성된다.

[0702] TRIDENT-A5의 제1 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:133)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWYQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYPNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGGDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGK
```

[0703]

[0704] TRIDENT-A5의 제2 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38)), 및 C-말단을 포함한다.

[0705] 그러므로, TRIDENT-A5의 제2 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0706] TRIDENT-A5의 제2 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:134)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWYQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYPNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGKVAAL
KEKVAALKEK VAALKEKVAALKE
```

[0707]

[0708] 시스템인 잔기를 포함하는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39) 및 KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40))을 포함하는 대체 TRIDENT-A5 제 1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 TRIDENT-A5 분자에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0709] TRIDENT-A5의 제3 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A4의 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:131)과 동일하다.

[0710] TRIDENT-A5의 제4 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A4의 제4 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:132)과 동일하다.

[0711] 4. TRIDENT-A6

[0712] TRIDENT-A6은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA인 PD-L1에 대한 1개의 결합 부위를 가진 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-A6은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL2/VH2 (부위 B)와 동일하며 CD137에 결합하고, VL3/VH3 (부위 C)은 PD-L1에 결합한다). TRIDENT-A6은 CD137 MAB-6(1.3) 및 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함한다.

[0713] TRIDENT-A6의 제1 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (E-코일) 도메인 (EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:37)), 개재 링커 펩타이드 (GGGDKTHTCPPC (서열 번호:21)), L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 치환을 포함하는 "손잡이 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:146), 및 C-말단을 포함한다.

[0714] 그러므로, TRIDENT-A6의 제1 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성된다.

[0715] TRIDENT-A6의 제1 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:135)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGGDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSL
PGK
```

[0716]

[0717] TRIDENT-A6의 제2 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)), 개재 링커 펩타이드 (링커 1; GGGSGGG (서열 번호:16)), CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 개재 링커 펩타이드 (링커 2; GCGGG (서열 번호:18)), 헤테로다이머 촉진 (K-코일) 도메인 (KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:38)), 및 C-말단을 포함한다.

[0718] 그러므로, TRIDENT-A6의 제2 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38로 구성된다.

[0719] TRIDENT-A6의 제2 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:136)이다:

```
EIVMTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVS SNYLSWFQQK PGQAPRLLIY
GASTRATGIP ARFSGSGSGT DFTLTISSLQ PEDFAVYYCQ QDYDLPWTFG
QGTKVEIKGG GSGGGGQVQL QESGPGLVKP SETLSLTCTV SGGSISSYYW
SWIRQPPGKG LEWIGRIYTS GSTNYNPSLK SRVTMSVDTS KNQFSLKLSS
VTAADTAVYY CARDGWYDED YNYYGMDVWG QGTTVTVSSG GCGGGKVAAL
KEKVAALKEK VAALKEKVAA LKE
```

[0720]

[0721] 시스템인 잔기를 포함하는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39) 및 KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40))을 포함하는 대체 TRIDENT-A6 제 1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 TRIDENT-A6 분자에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0722] TRIDENT-A6의 제3 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A4의 제3 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:131)과 동일하다.

[0723] TRIDENT-A6의 제4 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A4의 제4 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:132)과 동일하다.

[0724] 5. TRIDENT-B1

[0725] TRIDENT-B1은 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA, HER2에 대한 1개의 결합 부위를 가지는 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-B1은 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL2/VH2 (부위 B)와 동일하며 CD137에 결합하고, VL3/VH3 (부위 C)은 HER2에 결합한다). TRIDENT-B1은 CD137 MAB-6(1.1) 및 hHER2 MAB-1(1.3)의 결합 도메인을 포함한다.

[0726] TRIDENT-B1의 제1 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A의 제1 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:127)과 동일하다.

[0727] TRIDENT-B1의 제2 폴리펩타이드 사슬은 TRIDENT-A의 제2 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:128)과 동일하다.

[0728] 시스템인 잔기를 포함하는 헤테로다이머 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39) 및 KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40))을 포함하는 대체 TRIDENT-B1 제 1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 TRIDENT-B1 분자에서,

제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0729] TRIDENT-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{HER2} (hHER2 MAB-1 VH1, 서열 번호:80)), 인간 IgG1 CH1 도메인 (서열 번호:3), 인간 IgG1 힌지 영역 (서열 번호:7), 및 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/H435R 치환을 포함하는 "구멍 함유" CH2 및 CH3 도메인 (서열 번호:149)을 포함한다.

[0730] 그러므로, TRIDENT-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:80 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149로 구성된다.

[0731] TRIDENT-B1의 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:153)이다:

```
QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYGMNWVRQA PGQGLEWMGW
INTNIGEPTY TEEFKGRVTM TRDTSISTAY MELSRLRSDD TAVYYCARD
GYGNRVSYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPPL APSSKSTSGG TAALGCLVKD
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TTPAVLQSSG LYSLSVTVV PSSSLGTQTY
ICNVNHKPSN TKVDKRVPEK SCDKTHTCPP CPAPEAAGGP SVFLFPPKPK
DTLYITREPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
YTLPPSREEM TKNQVSLSCA VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPV
DSDGSFFLVS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNRYTQ KSLSLSPGK
```

[0732] TRIDENT-B1의 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, HER2에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{HER2} (hHER2 MAB-1 VL3, 서열 번호:85)), 인간 IgG CL 카파 도메인 (서열 번호:1), 및 C-말단을 포함한다.

[0734] 그러므로, TRIDENT-B1의 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:85 — 서열 번호:1로 구성된다.

[0735] TRIDENT-B1의 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:154)이다:

```
DIQMTQSPSS LSASVGRVT ITCKASQDIS NYLSWFQQKP GKAPKTLIYR
ANRLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HDEFPPWTFGQ
GTKLEIKRTV AAPSVEFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV
DNALQSGNSQ ESVTEQDSK STYLSLSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG
LSSPVTKSFN RGEC
```

[0736] 6. TRIDENT-B2

[0738] TRIDENT-B2는 2개의 CD137 결합 부위 및 대표적인 TA, HER2에 대한 1개의 결합 부위를 가진 3가 CD137 x CD137 x TA 결합 분자이다. TRIDENT-B2는 4개의 폴리펩타이드 사슬로 구성된다 (도 3A 참고, VL1/VH1 (부위 A)은 VL3/VH3 (부위 C)과 동일하고 CD137에 결합하며, VL2/VH2 (부위 B)는 HER2에 결합한다). TRIDENT-B2는 CD137 MAB-6(1.1) 및 hHER2 MAB-1(1.3)의 결합 도메인을 포함한다.

[0739] TRIDENT-B2의 제1 폴리펩타이드 사슬은 DART-B1의 제1 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:143)과 동일하다.

[0740] TRIDENT-B2의 제2 폴리펩타이드 사슬은 DART-B1의 제2 폴리펩타이드 사슬 (서열 번호:144)과 동일하다.

[0741] 시스템인 잔기를 포함하는 헤테로다имер 촉진 (E-코일 및 K-코일) 도메인 (예컨대, EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (서열 번호:39) 및 KVAACKK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (서열 번호:40))을 포함하는 대체 TRIDENT-B2 제 1 및 제2 폴리펩타이드 사슬이 사용될 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 그러한 대체 TRIDENT-B2 분자에서, 제1 폴리펩타이드 사슬은 때로는: 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146으로 구성되고 제2 폴리펩타이드 사슬은 때로는 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40으로 구성된다.

[0742] TRIDENT-B2의 제3 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VH 도메인 (VH_{CD137}) (CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)), 인간 IgG1 CH1 도메인 (서열 번호:3), 인간 IgG1 힌지 영역 (서열 번호:7), 및 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/H435R 치환을 포함하는 "구멍 함유" CH2 및

CH3 도메인 (서열 번호:149)을 포함한다.

[0743] 그러므로, TRIDENT-B2의 제3 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:46 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149로 구성된다.

[0744] TRIDENT-B2의 제3 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:155)이다:

[0745] QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS SYYWSWIRQP PGKGLEWIGR
 IYTSGSTNYN PSLKSRVTMS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARDGW
 YDEDYNYGYM DVWGQGTMTV VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
 LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
 TQTYICNVNH KPSNTKVDKR VEPKSCDKTH TCPPCPAPEA AGGPSVFLFP
 PKPKDTLYIT REPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
 QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
 EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LSCAVKGFYP SDIAVEWESN GPENNYKTT
 PPVLDSDGSF FLVSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN RYTQKLSLSL
 PGK

[0746] TRIDENT-B2의 제4 폴리펩타이드 사슬은, N-말단에서 C-말단 방향으로, N-말단, CD137에 결합할 수 있는 단클론성 항체의 VL 도메인 (VL_{CD137}) (CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)), 인간 IgG CL 카파 도메인 (서열 번호:1), 및 C-말단을 포함한다.

[0747] 그러므로, TRIDENT-B2의 제4 폴리펩타이드 사슬은: 서열 번호:50 — 서열 번호:1로 구성된다.

[0748] TRIDENT-B2의 제4 폴리펩타이드 사슬의 아미노산 서열은 (서열 번호:156)이다:

[0749] EDFAVYYCQQ DYDLPWTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA
 SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSLSTLT
 LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEN

[0750] C. 대체 CD137 x TA 결합 분자

[0751] 본 개시의 관점에서 인식되는 바와 같이, 상기 대표적인 분자 중 임의의 것의 일반적인 구조를 가지며 대체 TA에 대한 결합 부위를 포함하는 추가의 CD137 x TA 결합 분자는 항-PD-L1 또는 항-HER2의 VL 및 VH 도메인 대신 대체 종양 항원 항체의 VL 및 VH 도메인을 사용함으로써 구성될 수 있다. 유사하게, 본원에 제공된 것과 같이, 대체 CD137 x TA 결합 분자는 대체 링커 및/또는 헤테로다이어머 촉진 도메인 및/또는 항체 불변 영역 (예컨대, CL, CH2-CH3 도메인)을 통합하여 마찬가지로 구성될 수 있다.

[0752] D. 대조군 분자

[0753] 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자의 특성을 보다 의미있게 입증하기 위하여, VL 및 VH 도메인이 대조군 Fc 함유 디아바디 및 다른 비교기 및 대조군 결합 분자를 생성하기 위해 사용될 수 있는 비교기 및 대조군 항체가 본원에 기술된다.

[0754] 팔리비주맙(Palivizumab) (예컨대, 단백질 Data Bank (PDB) ID No. 2HWZ 참고)은 RSV의 F 단백질의 A 항원성 부위의 에피토프에 대해 지시된 인간화된 단클론성 항체 (IgG)이고, 적합한 대조군 항체이며, 그것의 VL 및 VH 도메인은 대조군 디아바디 및 다른 대조군 결합 분자를 생성하기 위해 사용될 수 있다. 대체 항-RSV 당단백질 F 항체로는 모타비주맙(motavizumab) (예컨대, PDB ID No. 3IXT 참고) 및 경쇄의 CDR1로부터 시스테인 잔기를 제거하도록 조작된 팔리비주맙의 변이체를 들 수 있다. 팔리비주맙의 변이체는 아래에서 기술되는 음성 대조군 분자의 생성에 사용되었다.

[0755] 팔리비주맙의 변이체의 VH 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:137)이다 (CDR_H 잔기는 밑줄로 표시된다):

[0756] QVTLRESGPA LVKPTQTTLT TCTFSGFSL TSGMSVGWIR QPPGKALEWL
ADIWDDKKD YNPSLKSRLT ISKDTSKNQV VLKVTNMDPA DTATYYCARS
MITNWYFDVW GAGTTVTVSS

[0757] 팔리비주맵의 변이체의 VL 도메인의 아미노산 서열은 (서열 번호:138)이다 (CDR_L 잔기는 밑줄로 표시된다):

DIQMTQSPST LSASVGRVVT ITCRASQSVG YMHWYQQKPG KAPKLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPD DFATYYCFQG SGYPFTFGGG
TKLEIK

[0758]

[0759] 우렐루맵 (BMS-663513으로도 알려짐, 미국 특허 제 8,137,667호 참고) 및 유토밀루맵 (PF-05082566으로도 알려짐, 미국 특허 제 8,337,850호 참고) 및 쥐과 및 인간화된 hCD137 MAB-3 (WO 2018/156740 참고)을 포함하여 이전에 기술된 항-CD137 항체의 에피토프 결합 부위를 포함하는 여러 분자가 본원에서 비교 목적으로 사용된다. 우렐루맵 (WHO Drug Information, 2011, Recommended INN: List 66, 25(3):334) 및 유토밀루맵 (WHO Drug Information, 2017, Recommended INN: List 77, 31(1):140-141)의 완전한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 기술분야에 알려져 있다. 본원에서 비교기로서 사용된 인간화된 hCD137 MAB-3(1B.3)의 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열은 WO 2018/156740에 제공되며, 단락 [00254] 및 [00261]을 참고한다.

[0760] E. CD137 x TA 결합 및 대조군 분자의 요약

[0761] 표 5는 DART-A - DART-A9, TRIDENT-A, 및 TRIDENT-A4-A6의 도메인 속성을 요약한다:

표 5

[0762]

표 5	명칭 (사슬의 수)	모 mAb	Fc 도메인	사슬 번호	서열 번호.	다른 구성요소
DART-A (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	116	E/K 코일	
			2	117		
			3	116		
			4	117		
DART-A1 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (2.1) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	118	E/K 코일	
			2	119		
			3	118		
			4	119		
DART-A2 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (2.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일	
			2	119		
			3	120		
			4	119		
DART-A3 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.1) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	118	E/K 코일	
			2	121		
			3	118		
			4	121		
DART-A4 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일	
			2	121		
			3	120		
			4	121		
DART-A5 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.2)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일	
			2	122		
			3	120		
			4	122		
DART-A6 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.3)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일	
			2	123		
			3	120		
			4	123		

DART-A7 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (4.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일
			2	124	
			3	120	
			4	124	
DART-A8 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (5.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일
			2	125	
			3	120	
			4	125	
DART-A9 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (6.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일
			2	126	
			3	120	
			4	126	
DART-A10 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (4.2) CD137 MAB-6 (1.3)	IgG1 (AA/YTE)	1	120	E/K 코일
			2	139	
			3	120	
			4	139	
DART-B1	hHER2 MAB-1 (1.3) CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA/TYE) (손잡이/구멍)	1	143	E/K 코일
			2	144	
			3	145	
DART-B2	hHER2 MAB-1 (1.3) CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA/YTE)	1	151	E/K 코일
			2	152	
			3	151	
			4	152	
TRIDENT-A (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA/TYE) (손잡이/구멍)	1	127	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	128	
			3	129	
			4	130	
TRIDENT-A4 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	1	127	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	128	
			3	131	
			4	132	
TRIDENT A5 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.2)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	1	133	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	134	
			3	131	
			4	132	
TRIDENT-A6	hPD-L1 MAB-2 (3.2) CD137 MAB-6 (1.3)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	1	135	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	136	
			3	131	
			4	132	
TRIDENT-B1	hHER2 MAB-1 (1.3) CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	1	127	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	128	
			3	153	
			4	154	
TRIDENT-B2	hHER2 MAB-1 (1.3) CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	1	143	CL/CH1 및 E/K 코일
			2	144	
			3	155	
			4	156	

[0763] 표 6은 비교기 및 음성 대조군으로서 제조된 추가의 DART 및 TRIDENT 분자의 속성을 보여준다:

표 6

표 6	명칭 (사슬의 수)	모 mAb	Fc 도메인	다른 구성요소
[0764]	DART-1 (4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) 변이체 팔리비주맵	IgG1 (AA/YTE)	CD137 MAB-6(1.1)의 VH/VL 대신 변이체 팔리비주맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 DART-A와 동일함
	DART-2(4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) CD137 MAB-2	IgG1 (AA)	hCD137 MAB-3(1B.3)의 VH/VL 대신 CD137 MAB-2의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 DART-A와 동일함
	DART-3(4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) VL/VL 유토밀루맵	IgG1 (AA)	hCD137 MAB-6(1.1)의 VH/VL 대신 유토밀루맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 DART-A와 동일함
	DART-4(3 사슬)	변이체 팔리비주맵 CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	hHER2 MAB-1 (1.3)의 VH/VL 대신 변이체 팔리비주맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 DART-B1과 동일함
	DART-5(4개 사슬)	변이체 팔리비주맵 CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA)	hHER2 MAB-1 (1.3)의 VH/VL 대신 변이체 팔리비주맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 DART-B2와 동일함
	TRIDENT-2(4개 사슬)	hPD-L1 MAB-2 (1.1) hCD137 MAB-3(1B.3)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	VH/VL 대신 hCD137 MAB-3(1B.3)의 VH/VL, 및 CD137 MAB6(1.1), 링커 2에 대해 서열 번호:19 및 시스테인 함유 헤테로다이어 축진 도메인을 포함하는 것을 제외하고 TRIDENT-A와 동일함 (전체 서열에 대해 WO 2020/041404의 단락 [00306]-[00311] 참조)
	TRIDENT-3	변이체 팔리비주맵 CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	hHER2 MAB-1 (1.3)의 VH/VL 대신 변이체 팔리비주맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 TRIDENT-B1과 동일함
	TRIDENT-4	변이체 팔리비주맵 CD137 MAB-6(1.1)	IgG1 (AA) (손잡이/구멍)	hHER2 MAB-1 (1.3)의 VH/VL 대신 변이체 팔리비주맵의 VH/VL을 포함하는 것을 제외하고 TRIDENT-B2와 동일함

[0765] III. 제조 방법

[0766] 발명의 결합 분자는 기술분야에 알려져 있는 임의의 방법을 사용하여 재조합적으로 만들어지고 발현된다. 그러한 분자는 결합 분자를 암호화하는 핵산을 얻고, 핵산을 사용하여 숙주 세포 (예컨대, CHO 세포)에서 분자의 재조합 발현을 위해 유용한 벡터를 생성함으로써, 재조합적으로 만들어질 수 있다. 사용될 수 있는 또 다른 방법은 식물 (예컨대, 담배) 또는 형질도입 우유에서 분자를 발현하는 것이다.

[0767] 관심의 폴리뉴클레오타이드 (예컨대, 본 발명의 결합 분자의 폴리펩타이드 사슬을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드)를 함유하는 벡터는 숙주 세포에 많은 적절한 수단, 이를테면 전기천공법; 미세발사체 충격; 리포펙션; 및 감염 (예컨대, 벡터가 백시니아 바이러스와 같은 감염성 병원체인 경우) 중 어느 것에 의해서든 도입될 수 있다. 핵산 또는 벡터의 숙주 세포로의 도입을 위한 기법은 기술분야에 잘 확립되어 있고 임의의 적합한 기법이 사용될 수 있다.

[0768] 이중성 DNA를 발현할 수 있는 어떠한 숙주 세포든지 관심의 결합 분자 (예컨대, 항체, 디아바디, 3가 결합 분자)를 발현시킬 목적에 대해 사용될 수 있다. 적합한 포유류 숙주 세포의 비제한적인 예로는 한정하는 것은 아니지만, COS, NSO, HEK-293, HeLa, 및 CHO 세포를 들 수 있다. 숙주 세포의 배양 방법은 기술분야에 잘 알려져 있다.

[0769] 결합 분자는 전형적으로 숙주 세포, 배양 배지, 등으로부터 분리 및/또는 정제된다. 항체 도메인 (예컨대, Fc 도메인)을 포함하는 재조합 결합 분자의 정제 기법은 기술분야에 잘 알려져 있고, 예를 들어 HPLC, FPLC, 또는 친화성 크로마토그래피 (예컨대, 단백질 A 또는 단백질 G를 사용함)의 사용을 들 수 있다. 정제 후에, 발명의 결합 분자는 선택적으로 제약학적으로 허용되는 부형제 또는 아래에서 기술되는 다른 물질과 함께 제약학적 조성물로 제형화될 수 있다.

[0770] IV. 제약학적 조성물

[0771] 발명의 조성물은 제약학적 조성물 (예컨대, 순수하지 않은 또는 비멸균 조성물)의 제조에 유용한 벌크 약물 조

성물 및 단위 투여 형태의 제조에 사용될 수 있는 제약학적 조성물 (즉, 대상체 또는 환자에게 투여하기에 적합한 조성물)을 포함한다. 그러한 조성물은 본 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자, 또는 그러한 작용제와 제약학적으로 허용되는 담체의 조합을 포함한다. 본원에서 제공되는 바, 발명의 조성물은 예방적 또는 치료적 유효량의 발명의 **CD137 x TA** 이중특이적 Fc 함유 디아바디 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0772] 발명은 또한 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자 및 면역 반응을 자극하는데 효과적인 하나 이상의 추가 분자 (예컨대, 면역 반응 억제제) 및/또는 상기에서 기술된 것과 같이, 적어도 하나의 특정 **TA**에 대해 특이적인 종양 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 추가 분자 (예컨대, 종양 특이적 단클론성 항체 또는 디아바디)와 함께, 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물을 포함한다.

[0773] 구체적인 구체예에서, 용어 "제약학적으로 허용되는"은 동물, 보다 구체적으로 인간에 사용하기 위해 미국 연방 정부 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인된 또는 미국 약적 또는 기타 일반적으로 인지도된 약전에 열거된 것을 의미한다. 용어 "담체"는 치료제와 함께 투여되는 희석제, 보조제 (예컨대, 프로인트 보조제 (완전 및 불완전), 부형제, 또는 비히클을 나타낸다. 그러한 제약학적 담체는 멸균 액체일 수 있다. 제약학적 조성물이 정맥 내로 투여될 때 수성 담체, 예컨대 식염수 용액, 수성 텍스트로스 및 글리세롤 용액이 바람직하다.

[0774] 일반적으로, 발명의 조성물의 성분은 별도로 또는 함께 혼합되어 단위 투여 형태로, 예를 들어, 건조 동결건조 분말 또는 수분 제거된 농축액으로서, 또는 활성제의 양을 표시하는 앰플 또는 사세와 같은 밀폐 밀봉된 용기 중의 액체 형태로 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여될 경우에, 그것은 멸균된 제약 등급의 물 또는 식염수를 함유한 주입병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사에 의해 투여되는 경우에, 성분이 투여 전에 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수 또는 식염수 앰플이 제공될 수 있다.

[0775] 본 발명은 또한 본 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자를 단독으로 또는 다른 작용제, 예를 들어, 제약학적으로 허용되는 담체와 함께 함유하는 하나 이상의 용기를 포함하는 제약학적 팩 또는 키트를 제공한다. 추가적으로, 질환의 치료에 유용한 하나 이상의 다른 예방 또는 치료제가 또한 제약학적 팩 또는 키트에 포함될 수 있다. 발명은 또한 발명의 제약학적 조성물의 하나 이상의 성분으로 채워진 하나 이상의 용기를 포함하는 제약학적 팩 또는 키트를 제공한다. 선택적으로 그러한 용기(들)에는 인간 투여에 대한 제조, 사용 또는 판매 기관에 의한 승인을 반영하는, 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기간에 의해 규정된 형태의 통지가 결부될 수 있다.

[0776] 키트는 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자를 포함할 수 있다. 키트는 하나 이상의 용기에 암의 치료에 유용한 하나 이상의 다른 예방제 및/또는 치료제를 추가로 포함할 수 있고; 및/또는 키트는 하나 이상의 종양 항원 (**TA**)에 결합하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 다른 예방제 또는 치료제는 화학요법제이다. 다른 구체예에서, 예방제 또는 치료제는 생물학적 또는 호르몬 치료제이다.

[0777] **V. 투여 방법**

[0778] 본 발명의 조성물은 발명의 분자, 또는 발명의 분자를 포함하는 조성물의 유효량을 대상체에게 투여함에 의해 암 또는 다른 질환, 또는 장애와 관련된 하나 이상의 증상의 치료, 예방, 및 개선을 위해 제공될 수 있다. 한 측면으로, 그러한 조성물은 실질적으로 정제된다 (즉, 그것의 효과를 제한하거나 원하지 않는 부작용을 생성하는 물질이 실질적으로 없음). 구체적인 구체예에서, 대상체는 동물이다. 또 다른 구체적인 구체예에서, 대상체는 비영장류 (예컨대, 소, 말, 고양이, 개, 설치류, 등) 또는 영장류 (예컨대, 시노몰구스 원숭이와 같은 원숭이, 인간, 등)와 같은 포유류이다. 또 다른 구체예에서, 대상체는 인간이다.

[0779] 발명의 분자를 투여하는 방법으로는, 한정하는 것은 아니지만, 비경구 투여 (예컨대, 피내, 근육내, 복강내, 정맥내 및 피하), 경막외, 및 점막 (예컨대, 비강내 및 구강 경로) 투여를 들 수 있다. 구체적인 구체예에서, 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자는 근육내로, 정맥내로, 또는 피하로 투여된다. 조성물은 임의의 편리한 경로에 의해, 예를 들어, 주입 또는 볼루스 주사에 의해, 상피 또는 피부점막 라이닝 (예컨대, 구강 점막, 직장 및 장 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고, 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적이거나 국소적일 수 있다.

[0780] 발명은 또한 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자가 분자의 양을 표시하는 앰플 또는 사세와 같은 밀폐 밀봉 용기에 포장되는 것을 제공한다. 한 구체예에서, 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자는 밀폐 밀봉된 용기 중의 건조 동결건조 분말 또는 수분이 없는 농축액으로서 공급되며, 예컨대, 물 또는 식염수로 대상체에게 투여하기에 적절한 농도로 재구성될 수 있다. 동결건조된 본 발명의 **CD137 x TA** 결합 분자는 원래의 용기에 2 내지 8°C에서 보관되어야 하고 분자는 재구성된 후 12시간 내에, 6시간 내에, 5시간 내에, 3시간 내에, 또는 1시간 내에 투여되어야

한다.

- [0781] 대체 구체예에서, 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 분자, 융합 단백질, 또는 콘주게이션된 분자의 양 및 농도를 표시하는 앰플 또는 사체와 같은 밀폐 밀봉 용기 중의 액체 형태로 공급된다. 특정 구체예에서, 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 액체 형태는 밀폐 밀봉 용기로 공급되며 재구성을 필요로 하지 않는다.
- [0782] 장애와 관련된 하나 이상의 증상의 치료, 예방 또는 개선에 효과적인 발명의 조성물의 양은 표준 임상 기법에 의해 측정될 수 있다. 제형에 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 상태의 심각성에 따라 달라질 것이고, 의사의 판단 및 각각의 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모델 테스트 시스템으로부터 파생된 용량 반응 곡선으로부터 추론될 수 있다.
- [0783] 본원에서 사용되는 바, 제약학적 조성물의 "**유효량**"은, 한 구체예에서, 제한 없이, 질환으로부터 유발된 증상을 감소시켜서 질환의 증상 (예컨대, 암 세포의 증식, 종양 존재, 종양 전이, 등)을 약화시키고, 그로써 질환을 앓고 있는 대상체의 삶의 질을 증가시키는 것, 질환을 치료하기 위해 필요한 다른 약물의 용량을 감소시키는 것, 표적화 및/또는 내재화를 통해서와 같이 또 다른 약물의 효과를 증강시키는 것, 질환의 진행을 지연시키는 것, 및/또는 개체의 생존을 연장시키는 것을 포함하여, 유익한 또는 원하는 결과를 이루기에 충분한 양이다.
- [0784] 그러한 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적에 대해, 약물, 화합물, 또는 제약학적 조성물의 유효량은 직접 또는 간접적으로 바이러스 존재의 (또는 효과의) 증식을 감소시키고 질환 (예컨대, 암)의 발달을 감소 및/또는 지연시키에 충분한 양이다. 일부 구체예에서, 약물, 화합물, 또는 제약학적 조성물의 유효량은 또 다른 약물, 화합물, 또는 제약학적 조성물과 함께 이루어질 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 그러므로, "**유효량**"은 하나 이상의 추가 작용제 (예컨대, 화학요법제, 또는 특정 상태에 대한 표준 치료로 간주되는 다른 작용제)를 투여하는 맥락에서 고려될 수 있고, 단일 작용제는 만약, 하나 이상의 다른 작용제와 함께 원하는 결과가 이루어질 수 있거나 이루어진다면 유효량으로 제공된 것으로 간주될 수 있다. 개체의 필요는 달라질 수 있지만, 각각의 구성요소의 유효량의 최적 범위의 결정은 기술분야의 지식 수준 내에 있다.
- [0785] 발명에 포함된 **CD137 x TA 결합 분자**의 경우, 환자에게 투여된 투여량은 수령 대상체의 체중 (kg)을 토대로 결정될 수 있고, 또는 대안으로 고정 용량을 토대로 할 수 있다.
- [0786] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 투여의 투여량 및 빈도는 예를 들어, 지질화와 같은 변형에 의해 **CD137 x TA 결합 분자**의 흡수 및 조직 침투를 향상시킴으로써 감소되거나 변경될 수 있다.
- [0787] 환자에게 투여된 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 투여량은 단일 작용제 요법으로서의 용도에 대해 계산될 수 있다. 대안으로, 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 환자에게 투여된 투여량이 상기 분자가 단일 작용제 요법으로서 사용되는 때보다 낮도록 다른 치료 조성물과 함께 사용된다.
- [0788] 치료적 또는 예방적 유효량의 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**로의 대상체의 치료는 단일 치료를 포함할 수 있거나, 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 한 예에서, 대상체는 약 1 내지 52주 동안 발명의 분자로 주 1회, 2주에 1회 (즉, 2주마다 1회), 또는 3주마다 1회 치료된다. 발명의 제약학적 조성물은 1일 1회, 1일 2회, 또는 1일 3회 투여될 수 있다. 대안으로, 제약학적 조성물은 주 1회, 주 2회, 2주마다 1회, 월 1회, 6주마다 1회, 2개월마다 1회, 년 2회 또는 년 1회 투여될 수 있다. 또한 치료에 사용된 분자의 유효 투여량은 특정 치료 기간 동안 증가되거나 감소될 수 있는 것이 인정될 것이다.
- [0789] **VI. 발명의 조성물의 용도**
- [0790] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 T 세포 (APC)에 (예를 들어, 그러한 T 세포의 표면 상에 발현된 CD137에 결합함으로써) 결합하는 능력 및 **TA** 발현 종양 세포에 (예를 들어, 그러한 종양 세포의 표면 상에 발현된 **TA**에 결합함으로써) 결합하는 능력을 가진다. 그러므로, 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 **TA** 발현 종양 세포에 T 세포를 공동 국지화시키는 능력을 가지며, 그로써 **TA**의 발현과 관련된 또는 **TA**의 발현을 특징으로 하는 임의의 질환 또는 상태를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 그러므로, 제한 없이, 그러한 분자를 포함하는 제약학적 조성물은, 한정하는 것은 아니지만: 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암을 포함하여, **TA**를 발현하는 암의 진단 또는 치료에 사용될 수 있다. 특히, **TA**를 고도로 발현하는 그러한 암.
- [0791] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 추가적으로 위에서 기술된 상태의 치료를 위한 의약의 제조에 사용될 수 있

다.

- [0792] 특정 구체예에서 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 암의 치료에 유용한 하나 이상의 다른 예방제 및/또는 치료제와 함께 사용된다. 특정 구체예에서, 다른 예방제 또는 치료제는 화학요법제이다. 다른 구체예에서, 다른 예방제 또는 치료제는 생물학적 또는 호르몬 치료제이다. 다른 구체예에서, 생물학적 치료제는, 한정하는 것은 아니지만, 하나 이상의 종양 항원 (**TA**)에 결합하는 항체, 항체의 항원 결합 단편 (예컨대, scFv, Fab, F(ab)2, 등), TandAb, 등), 다중특이적 결합 분자 (예컨대, 디아바디, 이중특이적 항체, 3가 결합 분자, 등)를 포함하여, 설포독성 항체 기반 분자이다.
- [0793] 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 종양 표적화제의 활성을 증강시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 추가적으로, 한정하는 것은 아니지만, 원하는 **TA**에 결합할 수 있는 항체, 항체의 항원 결합 단편 (예컨대, scFv, Fab, F(ab)2, 등), TandAb, 등), 다중특이적 결합 분자 (예컨대, 디아바디, 이중특이적 항체, 3가 결합 분자, 등)를 포함하여, 다른 종양 표적화제와 함께 사용될 수 있다. 종양 표적화제는 그러한 조합에 사용된 **CD137 x TA** 결합 분자와 동일하거나 상이한 **TA**에 결합할 수 있는 것이 구체적으로 고려된다. 특정 구체예에서, 종양 표적화제는 **TA** 및, 예를 들어, **CD3**, 및/또는 **CD8**을 포함하여 T 세포 상에 발현된 에피토프에 결합하여 T 세포 재지시된 사멸을 매개하는 다중특이적 분자이다. 대표적인 종양 표적화제로는, 한정하는 것은 아니지만, **TA** 및 **CD3**에 결합하는 ("**TA x CD3**") 분자를 들 수 있다. 그러한 조합에 사용될 수 있는 대표적인 **TA x CD3 결합 분자** (예컨대, 이중특이적 항체, DART® 분자, BiTe® 분자, TandAb, 등 및 3가 분자), 및 그것의 제조 방법은 기술분야에 잘 알려져 있다. (예컨대, WO 2013/026835, WO 2013/158856, WO 2014/047231; WO 2014/110601; WO 2014/131711; WO 2015/026894; WO 2015/026892; WO 2015/184203; WO 2015/184207; WO 2016/036937; WO 2016/182751; WO 2017091656; WO 2017/142928; WO 2017/118675 참고).
- [0794] 종양 표적화제 (예컨대, **TA x CD3** 결합 분자)와 조합된 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**의 사용은 억제 면역 조절자 프로그래밍된 사멸-1 ("**PD-1**", "CD279"로도 알려짐)의 상향 조절로 이어질 수 있다. PD-1은 **PD-L1** 및 **PD-L2** (또한 B7-H1 및 B7-DC로도 알려짐)에 결합함으로써 그것의 면역 체계의 억제를 매개한다 (Flies, D.B. et al. (2007) "*The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity*", J. Immunother. 30(3):251-260; 미국 특허 제 6,803,192호; 7,794,710호). 그러므로, PD-1의 억제 활성을 억제하는 작용제 ("**PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제**")의 추가의 첨가는 PD-1의 발현을 하향 조절하고 **CD137 x TA** 및 **TA x CD3** 결합 분자와 같은 종양 표적화제의 활성을 추가로 향상시킬 수 있다. 발명은 특히 PD-1에 결합하는 항체의 에피토프 결합 부위를 포함하는 PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제를 포함한다.
- [0795] 따라서, 본 발명의 **CD137 x TA 결합 분자**는 추가적으로 다른 종양 표적화제와 함께, 추가로 PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제와 함께 사용될 수 있다. **PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제**로는, 한정하는 것은 아니지만, PD-1 및/또는 PD-L1에 결합할 수 있는 항체, 항체의 항원 결합 단편 (예컨대, scFv, Fab, F(ab)2, 등), TandAb, 등), 다중특이적 결합 분자 (예컨대, 디아바디, 이중특이적 항체, 3가 결합 분자, 등)를 들 수 있다. 그러한 조합에 사용될 수 있는 대표적인 **PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제** 및 그것의 제조 방법은 기술분야에 잘 알려져 있다. 본 발명의 방법에 유용한 **PD-1** 결합 분자로는: 니볼루맵 (CAS Reg. No.:946414-94-4, 5C4, BMS-936558, ONO-4538, MDX-1106으로도 알려지고, Bristol-Myers Squibb에 의해 OPDIVO®로서 판매됨); 램브롤리주맵 (이전에는 램브롤리주맵(lambrolizumab)으로서 알려짐, CAS Reg. No.:1374853-91-4, 또한 MK-3475, SCH-900475로도 알려지고, Merck에 의해 KEYTRUDA®로 판매됨); 세미플리맵(cemiplimab) (CAS Reg. No.: 1801342-60-8, REGN-2810, SAR-439684로도 알려지고, LIBTAYO®로서 판매됨)을 들 수 있다. 니볼루맵 (WHO Drug Information, 2013, Recommended INN: List 69, 27(1):68-69), 램브롤리주맵 (WHO Drug Information, 2014, Recommended INN: List 75, 28(3):407), 및 세미플리맵 (WHO Drug Information 2018, Proposed INN: List 119)의 완전한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 기술분야에 알려져 있다. 본 발명의 방법 및 조성물에 유용한 독특한 결합 특성을 가진 추가적인 항-PD-1 항체 (예컨대, **hPD-1 mAb 7(1.2)**)가 최근에 확인되었다 (PCT 공개 번호 WO 2017/019846 참고).
- [0796] 그러한 조합이 사용되는 경우에, 하나 이상의 분자가 대상체에게 "동시에" 투여될 수 있고 (예컨대, **CD137 x TA** 결합 분자는 **TA x CD3** 결합 분자 및/또는 **PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제**가 투여되는 시간과 동일한 시간에 투여될 수 있고) 및/또는 하나 이상의 분자가 "순차적으로" 투여될 수 있는 것 (예컨대, **CD137 x TA** 결합 분자가 투여되고, 나중에 **TA x CD3** 결합 분자 및/또는 **PD-1/PD-L1 체크포인트 억제제**가 투여되거나, 또는 그 반대임)이 구체적으로 고려된다.
- [0797] **VII. 발명의 구체예**

- [0798] 이제 본 발명을 일반적으로 기술하였고, 본 발명은 예시로 제공되며 명시되지 않는 한 본 발명을 제한하려는 의도가 아닌 다음의 번호가 매겨진 구체예 ("E")를 참조로 더 쉽게 이해될 것이다:
- [0799] E1. CD137의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 제1 결합 부위를 포함하는 **CD137 결합 분자**로, 상기 제1 결합 부위는 CDR_L1, CDR_L2 및 CDR_L3을 포함하는 제1 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_H1, CDR_H2 및 CDR_H3을 포함하는 제1 중쇄 가변 도메인을 포함하고; 여기서:
- [0800] (A) 상기 제1 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **CD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**의 경쇄 CDR이며;
- [0801] (B) 상기 제1 중쇄 가변 도메인 CDR_H1, CDR_H2, 및 CDR_H3은 **CD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 중쇄 CDR이다.
- [0802] E2. E1의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하는 **CD137 결합 분자**.
- [0803] E3. E1 또는 E2의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 제1 경쇄 가변 도메인은:
- [0804] (A) **hCD137 MAB-6 VLx (서열 번호:54)**;
- [0805] (B) **hCD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**;
- [0806] (C) **hCD137 MAB-6 VL2 (서열 번호:55)**; 또는
- [0807] (D) **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0808] E4. E1 내지 E3 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0809] (A) 상기 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0810] (B) 상기 제1 경쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VL1 (서열 번호:50)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0811] E5. E1 내지 E3 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0812] (A) 상기 제1 중쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VH1 (서열 번호:46)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0813] (B) 상기 제1 경쇄 가변 도메인은 **hCD137 MAB-6 VL3 (서열 번호:56)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0814] E6. E1 내지 E5 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 분자는 종양 항원 (TA)에 면역특이적으로 결합하는 제2 결합 부위를 포함하는 이중특이적 분자이고, 상기 제2 결합 부위는 CDR_L1, CDR_L2 및 CDR_L3을 포함하는 제2 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_H1, CDR_H2 및 CDR_H3을 포함하는 제2 중쇄 가변 도메인을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0815] E7. E6의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 TA는 표 1-2에 제시된 항원으로부터 선택되는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0816] E8. E6의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 TA는 PD-L1이고:
- [0817] (A) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 경쇄 CDR이며;
- [0818] (B) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_H1, CDR_H2, 및 CDR_H3은 **hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:59)**의 중쇄 CDR인 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0819] E9. E8의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0820] (A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:63)**의 경쇄 CDR이거나; 또는
- [0821] (2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:58)**의 경쇄 CDR이거나; 또는
- [0822] (3) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 **hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)**의 경쇄 CDR이고;

- [0823] (B) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:59)의 중쇄 CDR이거나;
- [0824] (2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:57)의 중쇄 CDR이거나;
- [0825] (3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)의 중쇄 CDR이거나;
- [0826] (4) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)의 중쇄 CDR;
- [0827] (5) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:69)의 중쇄 CDR이거나;
- [0828] (6) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:70)의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0829] (7) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:71)의 중쇄 CDR인 것인 CD137 결합 분자.
- [0830] E10. E9의 CD137 결합 분자로서, 상기 제2 중쇄 가변 도메인은:
- [0831] (A) hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:59);
- [0832] (B) hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57);
- [0833] (C) hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67);
- [0834] (D) hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68);
- [0835] (E) hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69);
- [0836] (F) hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70); 또는
- [0837] (G) hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0838] E11. E9 또는 E10의 CD137 결합 분자로서, 상기 제2 경쇄 가변 도메인은:
- [0839] (A) hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63);
- [0840] (B) hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58); 또는
- [0841] (C) hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0842] E12. E10 또는 E11의 CD137 결합 분자로서,
- [0843] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VHx (서열 번호:59)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0844] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0845] E13. E10 또는 E11의 CD137 결합 분자로서,
- [0846] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0847] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0848] E14. E10 또는 E11의 CD137 결합 분자로서,
- [0849] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0850] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.

- [0851] E15. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0852] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0853] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0854] E16. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0855] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0856] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0857] E17. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0858] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0859] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **C137 결합 분자**.
- [0860] E18. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0861] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0862] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VLx (서열 번호:63)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0863] E19. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0864] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH1 (서열 번호:57)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0865] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VL1 (서열 번호:58)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0866] E20. E10 또는 E11의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0867] (A) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0868] (B) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0869] E21. E6의 **CD137 결합 분자**로서, TA는 5T4이고:
- [0870] (A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)**의 경쇄 CDR이며;
- [0871] (2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)**의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0872] (B) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **5T4 MAB-2 VL (서열 번호:95)**의 경쇄 CDR이고;
- [0873] (2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **5T4 MAB-2 VH (서열 번호:96)**의 중쇄 CDR인 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0874] E22. E21의 **CD137 결합 분자**로서, 제2 중쇄 가변 도메인은 **5T4 MAB-1 VH (서열 번호:92)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0875] E23. E21 또는 E22의 **CD137 결합 분자**로서, 제2 경쇄 가변 도메인은 **5T4 MAB-1 VL (서열 번호:93)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0876] E24. E6의 **CD137 결합 분자**로서, TA는 HER2이고:
- [0877] (A) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hHER2-MAB-1 VLx (서열 번호:79)**의 경쇄 CDR이며;
- [0878] (B) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hHER2-MAB-1 VHx (서열 번호:78)**의 중쇄 CDR인 것인

CD137 결합 분자.

- [0879] E25. E24의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0880] (A) (1) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hHER2-MAB-1 VL1 (서열 번호:83)**의 경쇄 CDR이거나;
- [0881] (2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hHER2-MAB-1 VL2 (서열 번호:84)**의 경쇄 CDR이거나; 또는
- [0882] (3) 상기 제2 경쇄 가변 도메인 CDR_{L1}, CDR_{L2}, 및 CDR_{L3}은 **hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)**의 경쇄 CDR이며;
- [0883] (B) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80)**의 중쇄 CDR이거나;
- [0884] (2) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hHER2-MAB-1 VH2 (서열 번호:81)**의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [0885] (3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hHER2-MAB-1 VH3 (서열 번호:82)**의 중쇄 CDR인 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0886] E26. E25의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 제2 중쇄 가변 도메인은:
- [0887] (A) **hHER2-MAB-1 VHx (서열 번호:78)**;
- [0888] (B) **hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80)**;
- [0889] (C) **hHER2-MAB-1 VH2 (서열 번호:81)**; 또는
- [0890] (D) **hHER2-MAB-1 VH3 (서열 번호:82)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0891] E27. E25 또는 E26의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 제2 경쇄 가변 도메인은:
- [0892] (A) **hHER2-MAB-1 VLx (서열 번호:79)**;
- [0893] (B) **hHER2-MAB-1 VL1 (서열 번호:83)**;
- [0894] (C) **hHER2-MAB-1 VL2 (서열 번호:84)**; 또는
- [0895] (D) **hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0896] E28. E24 내지 E26 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서,
- [0897] (A) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hHER2-MAB-1 VHx (서열 번호:78)**의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0898] (2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hHER2-MAB-1 VLx (서열 번호:79)**의 아미노산 서열을 포함하거나;
- [0899] 또는
- [0900] (B) (1) 상기 제2 중쇄 가변 도메인은: **hHER2-MAB-1 VH1 (서열 번호:80)**;의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0901] (2) 상기 제2 경쇄 가변 도메인은: **hHER2-MAB-1 VL3 (서열 번호:85)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0902] E29. E1 내지 E29 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서, 항체, 이중특이적 항체, 이중특이적 2가 Fc 함유 디아바디, 또는 이중특이적 4가 Fc 함유 디아바디, 또는 이중특이적 3가 분자인 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0903] E30. E1 내지 E29 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 분자는 이중특이적이고 2가이며, 제1, 제2, 및 제3 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0904] E31. E1 내지 E29 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 분자는 이중특이적이고 4가이며, 제1, 제2, 제3, 및 제4 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성하는 것인 **CD137**

결합 분자.

- [0905] E32. E1 내지 E29 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 분자는 이중특이적이고 3가이며, 제1, 제2, 제3, 및 제4, 폴리펩타이드 사슬을 포함하고, 상기 폴리펩타이드 사슬은 공유 결합된 복합체를 형성하는 것인 **CD137 결합 분자**.
- [0906] E33. E31의 **CD137 결합 분자**로서, 상기 **TA**는 PD-L1이고:
- [0907] (A) 상기 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0908] (i) 서열 번호:63 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43;
- [0909] (ii) 서열 번호:63 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43;
- [0910] (iii) 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43;
- [0911] (iv) 서열 번호:58 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43;
- [0912] (v) 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43; 또는
- [0913] (vi) 서열 번호:72 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43을 포함하며;
- [0914] (B) 상기 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0915] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:59 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0916] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:59 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0917] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:57 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0918] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:57 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0919] (v) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:67 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0920] (vi) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:67 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0921] (vii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0922] (viii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0923] (ix) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0924] (x) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0925] (xi) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0926] (xii) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:68 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0927] (xiii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0928] (xiv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0929] (xv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:70 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0930] (xvi) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:70 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0931] (xvii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:71 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0932] (xviii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:71 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0933] (xix) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40; 또는

- [0934] (xx) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:69 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0935] E34. E31 또는 E33의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 PD-L1이고:
- [0936] (A) 상기 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:116, 서열 번호:118, 또는 서열 번호:120의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0937] (B) 상기 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:117, 서열 번호:119, 서열 번호:121, 서열 번호:122, 서열 번호:123, 서열 번호:124, 서열 번호:125, 서열 번호:126, 또는 서열 번호:139의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0938] E35. E34의 CD137 결합 분자로서, 상기 분자는:
- [0939] (A) 서열 번호:116 및 서열 번호:117;
- [0940] (B) 서열 번호:118 및 서열 번호:119;
- [0941] (C) 서열 번호:120 및 서열 번호:119;
- [0942] (D) 서열 번호:118 및 서열 번호:121;
- [0943] (E) 서열 번호:120 및 서열 번호:121;
- [0944] (F) 서열 번호:120 및 서열 번호:122;
- [0945] (G) 서열 번호:120 및 서열 번호:123;
- [0946] (H) 서열 번호:120 및 서열 번호:124;
- [0947] (I) 서열 번호:120 및 서열 번호:125;
- [0948] (J) 서열 번호:120 및 서열 번호:126; 또는
- [0949] (K) 서열 번호:120 및 서열 번호:139를 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0950] E36. E32의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 PD-L1이고:
- [0951] (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0952] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0953] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0954] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0955] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0956] (v) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0957] (vi) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [0958] (vi) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146; 또는
- [0959] (vii) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146을 포함하며;
- [0960] (B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:

- [0961] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0962] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0963] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0964] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0965] (v) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [0966] (vi) 서열 번호:55 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [0967] (vi) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38; 또는
- [0968] (vii) 서열 번호:56 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40을 포함하고;
- [0969] (C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0970] (i) 서열 번호:59 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149;
- [0971] (ii) 서열 번호:57 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149;
- [0972] (iii) 서열 번호:67 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149;
- [0973] (iv) 서열 번호:68 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149;
- [0974] (v) 서열 번호:69 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149;
- [0975] (vi) 서열 번호:70 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149; 또는
- [0976] (vii) 서열 번호:71 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149를 포함하며;
- [0977] (D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0978] (i) 서열 번호:63 — 서열 번호:1; 또는
- [0979] (ii) 서열 번호:72 — 서열 번호:1을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0980] E37. E32의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 PD-L1이고:
- [0981] (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0982] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:59 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146; 또는
- [0983] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:59 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146을 포함하며;
- [0984] (B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0985] (i) 서열 번호:63 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38; 또는
- [0986] (ii) 서열 번호:63 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40을 포함하고;
- [0987] (C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0988] (i) 서열 번호:46 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149를 포함하며;
- [0989] (D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
- [0990] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:1; 또는
- [0991] (ii) 서열 번호:50 — 서열 번호:1을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0992] E38. E32 또는 E36의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 PD-L1이고:
- [0993] (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:127, 서열 번호:133, 또는 서열 번호:135의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0994] (B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:128, 서열 번호:134, 또는 서열 번호:136의 아미노산 서열을 포함

하고;

- [0995] (C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:129, 또는 서열 번호:131의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0996] (D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 서열 번호:130, 서열 번호:132의 아미노산 서열을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [0997] E39. E38의 CD137 결합 분자로서, 상기 분자는:
 - [0998] (A) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:129, 및 서열 번호:130;
 - [0999] (B) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132;
 - [1000] (C) 서열 번호:133, 서열 번호:134, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132; 또는
 - [1001] (D) 서열 번호:135, 서열 번호:136, 서열 번호:131, 및 서열 번호:132를 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [1002] E40. E31의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 HER2이고:
 - [1003] (A) 상기 제1 및 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
 - [1004] (i) 서열 번호:79 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43; 또는
 - [1005] (ii) 서열 번호:79 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43;
 - [1006] (iii) 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43; 또는
 - [1007] (iv) 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:30 — 서열 번호:43을 포함하며;
 - [1008] (B) 상기 제2 및 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
 - [1009] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:78 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
 - [1010] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:78 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38.
 - [1011] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40; 또는
 - [1012] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [1013] E41. E32의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 HER2이고:
 - [1014] (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
 - [1015] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
 - [1016] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
 - [1017] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146; 또는
 - [1018] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;을 포함하며;
 - [1019] (B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로:
 - [1020] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
 - [1021] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
 - [1022] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38; 또는

- [1023] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40을 포함하고;
- [1024] (C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1025] (i) 서열 번호:78 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149; 또는
- [1026] (ii) 서열 번호:80 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149를 포함하며;
- [1027] (D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1028] (i) 서열 번호:79 — 서열 번호:1; 또는
- [1029] (ii) 서열 번호:85 — 서열 번호:1을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [1030] E42. E32의 CD137 결합 분자로서, 상기 TA는 HER2이며;
- [1031] (A) 상기 제1 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1032] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:78 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [1033] (ii) 서열 번호:54 — 서열 번호:16 — 서열 번호:78 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146;
- [1034] (iii) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:80 — 서열 번호:18 — 서열 번호:37 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146; 또는
- [1035] (iv) 서열 번호:50 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:39 — 서열 번호:21 — 서열 번호:146을 포함하고;
- [1036] (B) 상기 제2 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1037] (i) 서열 번호:79 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38;
- [1038] (ii) 서열 번호:79 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40;
- [1039] (iii) 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:38; 또는
- [1040] (iv) 서열 번호:85 — 서열 번호:16 — 서열 번호:46 — 서열 번호:18 — 서열 번호:40을 포함하며;
- [1041] (C) 상기 제3 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1042] (i) 서열 번호:46 — 서열 번호:3 — 서열 번호:7 — 서열 번호:149를 포함하고;
- [1043] (D) 상기 제4 폴리펩타이드 사슬은 N-말단에서 C-말단 방향으로;
- [1044] (i) 서열 번호:54 — 서열 번호:1; 또는
- [1045] (ii) 서열 번호:50 — 서열 번호:1을 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [1046] E43. E40 내지 E42 중 어느 하나의 CD137 결합 분자로서, 상기 분자는:
- [1047] (A) 서열 번호:151, 및 서열 번호:152;
- [1048] (B) 서열 번호:127, 서열 번호:128, 서열 번호:153, 및 서열 번호:154; 또는
- [1049] (C) 서열 번호:143, 서열 번호:144, 서열 번호:155, 및 서열 번호:165를 포함하는 것인 CD137 결합 분자.
- [1050] E44. E1 내지 E43 중 어느 하나의 CD137 결합 분자, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.
- [1051] E45. 상기 TA의 발현과 관련된 또는 TA의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의 E1 내지 E43 중 어느 하나의 CD137 결합 분자, 또는 E44의 제약학적 조성물의 용도.
- [1052] E46. CDR_L1, CDR_L2 및 CDR_L3을 포함하는 경쇄 가변 도메인, 및 CDR_H1, CDR_H2 및 CDR_H3을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 PD-L1 결합 분자로서,
- [1053] (A) 상기 경쇄 가변 도메인 CDR_L1, CDR_L2, 및 CDR_L3은 hPD-L1 MAB-2 VL2 (서열 번호:72)의 경쇄 CDR이며;

- [1054] (B) (1) 상기 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)**의 중쇄 CDR이거나;
- [1055] (2) 상기 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**의 중쇄 CDR이거나;
- [1056] (3) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)**의 중쇄 CDR이거나;
- [1057] (4) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70)**의 중쇄 CDR이거나; 또는
- [1058] (5) 상기 제2 중쇄 가변 도메인 CDR_{H1}, CDR_{H2}, 및 CDR_{H3}은 **hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)**의 중쇄 CDR인, **PD-L1 결합 분자**.
- [1059] E47. E46의 **PD-L1 결합 분자**로서, 상기 중쇄 가변 도메인은:
- [1060] (A) **hPD-L1 MAB-2 VH2 (서열 번호:67)**;
- [1061] (B) **hPD-L1 MAB-2 VH3 (서열 번호:68)**;
- [1062] (C) **hPD-L1 MAB-2 VH4 (서열 번호:69)**;
- [1063] (D) **hPD-L1 MAB-2 VH5 (서열 번호:70)**; 또는
- [1064] (E) **hPD-L1 MAB-2 VH6 (서열 번호:71)**의 아미노산 서열을 포함하는 것인 **PD-L1 결합 분자**.
- [1065] E48. E46 또는 E47의 **PD-L1 결합 분자**로서, 상기 중쇄 가변 도메인은 **hPD-L1 MAB-2 VL2**의 아미노산 서열 (**서열 번호:72**)을 포함하는 것인 **PD-L1 결합 분자**.
- [1066] E49. E46 내지 E48 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**로서, 상기 분자는 항체 또는 그것의 항원 결합 단편인 것인 **PD-L1 결합 분자**.
- [1067] E50. E46 내지 E48 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**로서, 상기 분자는 다중특이적 결합 분자인 것인 **PD-L1 결합 분자**.
- [1068] E51. E50의 **PD-L1 결합 분자**로서, 상기 분자는 이중특이적 디아바디, 이중특이적 항체, 또는 3가 결합 분자인 것인 **PD-L1 결합 분자**.
- [1069] E52. E46 내지 E51 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**, 및 생리적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.
- [1070] E53. 억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료에서의 E46 내지 E51 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**, 또는 E52의 제약학적 조성물의 용도.
- [1071] E54. E53의 용도로서, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 PD-L1의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태는 암인 것인 용도.
- [1072] E55. E45, 또는 E54 중 어느 하나의 용도로서, 상기 암은: 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인 용도.
- [1073] E56. 종양 표적화제의 활성을 증강시키는 방법으로서, 상기 종양 표적화제를 E1 내지 E43 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**, E46 내지 E51 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**, 또는 E44 또는 E52의 제약학적 조성물과 조합하여 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1074] E57. 억제된 면역 체계와 관련된 또는 **TA**의 발현을 특징으로 하는 질환 또는 상태의 치료 방법으로서, E1 내지 E43 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**, E46 내지 E53 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**, 또는 E44 또는 E53의 제약학적 조성물을 그것을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법.
- [1075] E58. E57의 방법으로서, 억제된 면역 체계와 관련된 또는 **TA**의 발현을 특징으로 하는 상태는 암인 것인 방법.

- [1076] E59. E57 또는 E58의 방법으로서, 중앙 표적화제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.
- [1077] E60. E56 또는 E59의 방법으로서, 상기 중앙 표적제는 항체, 항체의 에피토프 결합 단편, 또는 표적 세포의 T 세포 재지시된 사멸을 매개하는 작용제인 것인 방법.
- [1078] E61. E57 내지 E60 중 어느 하나의 방법으로서, 암은: 방광암, 골암, 뇌 및 척수암, 유방암, 자궁경부암, 대장암, 담낭 또는 담관암, 위암, 교모세포종, 두경부암, 간세포 암종, 신장암, 백혈병, 간암, 폐암, 흑색종, 신경모세포종, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 난소암, 췌장암, 후두암, 전립선암, 신장 세포 암종, 횡문근육종, 피부암, 두경부의 편평 세포 암 (SCCHN), 위암, 고환암, 흉선 암종, 및 자궁암으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인 방법.
- [1079] E62. E1 내지 E43 중 어느 하나의 **CD137 결합 분자**, 또는 E46 내지 E51 중 어느 하나의 **PD-L1 결합 분자**를 암 호화하는 핵산.
- [1080] E63. E62에 따르는 핵산을 포함하는 발현 벡터.
- [1081] E64. E62에 따르는 핵산 또는 E63에 따르는 발현 벡터를 포함하는 세포.
- [1082] E65. E64에 따르는 세포로서, 상기 세포는 포유류 세포인 것인 세포.
- [1083] **실시예**
- [1084] 이제 본 발명을 일반적으로 기술하였고, 본 발명은 다음의 실시예를 참조함으로써 보다 쉽게 이해될 것이다. 다음의 실시예는 발명의 진단 또는 치료 방법에서의 조성물에 대한 다양한 방법을 예시한다. 실시예는 예시하기 위해 의도되지만, 어떠한 방식으로든 발명의 범주를 제한하지 않는다.
- [1085] **실시예 1**
- [1086] **방법**
- [1087] 테스트 물품 (예컨대, 항체, 디아바디, 또는 3가 분자)의 NF/κB 경로의 표적 의존성 신호 변환을 매개하는 능력을 본질적으로 다음과 같이 수행된 CD137 리포터 검정에서 CD137 발현 수용체 세포주 (Jurkat-NF-κB-Luc)를 사용하여 평가하였다: 이중특이적 분자의 경우 100 μL의 검정 배지 (RPMI-1640, 10% FBS) 중의 표적 세포 (유형 및 수는 도면 및 아래에서 나타냄)를 멸균 검정 마이크로플레이트에 플레이팅하고 37°C에서 밤새 인큐베이션하였다. 2일 째에, CD137을 과다발현하는 Jurkat-NF-κB-Luc 수용체 세포 (50 μL의 검정 배지 중의 4x10⁴ 내지 7.5x10⁴ 세포) 및 50 μL의 연속 희석된 테스트 물품을 표적 세포를 함유하고 있는 각각의 웰 및 표적 세포가 없는 대조군 웰에 신속하게 연속적으로 첨가하였다. 플레이트를 4-5시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 그런 후 BioGlo 기질 (Promega)을 각 웰에 첨가하고 (50 μL) 플레이트를 추가로 5-10분 동안 실온 ("RT")에서 인큐베이션하고, 발광 상대 광단위 (RLU)를 관독값으로서 사용하여, 예를 들어 Perkin Elmer 구상 장치를 사용하여 발광을 검출함으로써 신호 변환을 측정하였다. 단일특이적 항-CD137 항체의 경우, 표적 세포를 사용하지 않았고, 대신 4배 과잉량의 염소 항-마우스 또는 염소 항-인간 항체를 첨가하여 항체를 교차연결시켰다.
- [1088] CD137 결합에 대해 테스트 물품을 평가하기 위하여 ELISA 검정을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 평평한 바닥 maxisorb 96-웰 플레이트를 각각 0.5 또는 1 μg/mL의 가용성 인간 또는 시노몰구스 원숭이 CD137 (His 태그 (shCD137 His 또는 scyCD137 His) 또는 인간 Fc 영역 (shCD137 hFc 또는 scyCD137 hFc)에 융합된 인간 또는 시노몰구스 원숭이 CD137의 세포외재성 도메인)로 코팅하였다. 플레이트를 세척하고, 0.5% 소 혈청 알부민 및 0.1% Tween20을 함유한 PBS 완충액으로 차단하고, 테스트 물품 (예컨대, 세포 상층액 또는 정제된 mAb)과 함께 인큐베이션하였다. 하이브리도마 상층액에 대해 항-CD137 항체를 1.0 μg/mL 및 6개의 3배 연속 희석액으로 사용하였다. 고정된 CD137 (인간 또는 시노몰구스 원숭이)에 결합하는 테스트 물품의 양을 염소 항-마우스 IgG-HRP 이차 항체를 사용하여 평가하였다. 모든 샘플을 플레이트 관독기 (Victor 2 Wallac, Perkin Elmer) 상에서 분석하고 EC50 값을 비선형 회귀 분석에 의해 용량 반응 곡선으로부터 계산하였다.
- [1089] T 세포 사이토카인 방출 검정 (표적 세포의 부재 하에 차선의 자극된 일차 T 세포를 사용함)을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 50 μL의 연속 희석된 테스트 물품 (항체 (항-인간 Fc (Fab)₂와 +/- 교차 연결), 2 x 10⁶ 비드/mL의 50 μL의 사전세척된 다이내비드 αCD3 (REF 11151D; Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, 또는 유사품), 및 10⁶ 세포/mL의 100 μL/웰의 인간 pan T 세포 (Dynabeads 미접촉 인간 T 세포 키트

(Invitrogen Cat# 11344D) 또는 유사품을 제조사의 프로토콜에 따라 사용하여 도너 PBMC로부터 정제됨)를 검정 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트 상의 각 웰의 최종 부피는 200 μ L였다. 테스트 물질 또는 α CD3 비드를 함유하지 않은 대조군 웰의 경우, 검정 배지를 첨가하여 총 부피를 200 μ L로 하고 플레이트를 72시간 동안 조직 배양 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 그런 후 상층액을 각 웰로부터 수집하고 IL-2, IL-10, TNF- α , 및 IFN- γ 의 방출된 사이토카인을 사이토카인 ELISA 키트 (예컨대, R&D System 인간 IL-2 DuoSet ELISA (Cat: DY202), 인간 IFN-감마 DuoSet ELISA (Cat: DY285) 및 인간 TNF-알파 DuoSet ELISA (Cat: DY210) 또는 유사한 상업적 시약)를 제조사의 지침을 따라 사용하여 측정하였다. 마이크로소프트 엑셀 및 SoftMax Pro를 데이터 분석에 사용하여 사이토카인 수준을 추론하였고, Prism으로 플롯팅하였다.

[1090] 세포 표면 CD137에 결합하는 테스트 물품을 평가하기 위한 FACS 분석을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 100 μ L의 CD137을 발현하는 CHO 세포 (CHO/CD137) (1.0×10^5 내지 1×10^6 세포/웰) 및 100 μ L의 연속 희석된 테스트 물질 또는 대조군을 미세역가 검정 플레이트(들)의 각 웰에 첨가하고, 혼합하고 실온에서 약 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충액으로 세척한 후 이차 항체 (염소 항-인간-APC, PE, 또는 FITC)를 각 웰에 첨가하였고 (1:1000), 그런 후 구성요소들을 혼합하고 웰을 실온에서 약 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 세척하고 250 μ L FACS 완충액에 재현탁하고 세포 사건 수집을 위해 유동 세포분석에 의해 분석하였다 (BD LSR Fortessa 또는 FACSCanto II). 데이터 분석을 FloJo v10을 통해 수행하였다.

[1091] CD137에 대한 결합에 대해 항-CD137 항체와 CD137 리간드 사이의 결합을 Octet 바이오센서 (Pa11 ForteBio) 상에서 실시간, 무표지 생물층 간섭계 검정을 사용하여 본질적으로 다음과 같이 측정하였다: 항-CD137 항체를 항-인간 Fc 바이오센서 상에 고정시킨 후 쥐과 Fc 도메인 (shCD137 mFc; 10 μ g/mL)에 융합된 인간 CD137의 세포외 재성 도메인과 30초 동안 회합시켰다. 그런 후 센서를 재조합 인간 CD137 리간드 (R&D Systems; 5 μ g/mL)에 30초 동안 침지시켜서 리간드가 사전형성된 CD137/항체 복합체에 결합할 수 있는지 또는 그것의 결합이 차단되었는지를 모니터링하였다.

[1092] 항-CD137 항체 (인간 Fc 영역을 가짐)의 결합 역학을 BIACORE™ SPR 분석을 사용하여 조사하였다. 항-CD137 항체는 Fab'2 염소-항-인간 Fc 표면에 포획되었다. shCD137 His 또는 scyCD137 His (12.5 nM, 50 nM, 200 nM)의 결합 및 해리를 모니터링하고 센소그램을 1:1 결합 모델을 사용하여 피팅하여 결합 및 해리 속도 상수를 계산하고 KD를 측정하였다.

[1093] 세포 표면 PD-L1에 대한 결합에 대해 테스트 물품을 평가하기 위한 FACS 분석을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 100 μ L의 PD-L1을 발현하는 CHO 세포 (CHO/PD-L1) (1.0×10^5 내지 1×10^6 세포/웰) 및 100 μ L의 연속 희석된 테스트 물품을 미세역가 검정 플레이트(들)의 각 웰에 첨가하고, 혼합하고 실온에서 약 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 FACS 완충액으로 세척한 후 이차 항체 (염소 항-인간-FITC, PE, 또는 APC)를 각 웰에 첨가한 후, 구성요소들을 혼합하고 웰을 실온에서 약 30분 동안 인큐베이션하였다. 세포를 세척하고 250 μ L FACS 완충액에 재현탁하고 세포 사건 수집을 위해 유동 세포분석에 의해 분석하였다 (BD LSR Fortessa 또는 FACSCanto II). 데이터 분석을 FloJo v10을 통해 수행하였다.

[1094] PD-1/PD-L1 축에 길항하는 테스트 물질의 능력 (즉, PD-1/PD-L1 상호작용을 차단하고 T 세포 반응의 하향 조절을 방지하는 능력)을 본질적으로 다음과 같이 수행된 Jurkat-luc-NFAT/CHO/PD-L1 루시페라제 PD-L1 리포터 검정으로 평가하였다: CHO/PD-L1 세포를 100 μ L의 배양 배지 (DMEM/F12 + 10% FBS + 200 μ g/mL 하이그로마이신 B + 250 μ g/mL G418)에 40,000/웰로 플레이트팅하고 밤새 인큐베이션하였다. 다음날 배지를 제거하고 50 μ L 검정 완충액 (RPMI + 2% FBS) 중의 125,000 세포/웰의 NFAT-luc2/PD-1 Jurkat 세포 (Promega), 및 50 μ L의 연속 희석된 테스트 물품을 각 웰에 첨가하고 6시간 동안 37°C에서 인큐베이션하였다. 그런 후 80 μ L의 BioGlo 기질 (Promega)을 각 웰에 첨가하고 플레이트를 추가로 5-10분 동안 실온에서 인큐베이션하고, 발광 상대 광단위 (RLU)를 판독값으로 사용하여 발광을 검출함으로써 (예를 들어 Perkin Elmer 구상 장치를 사용함) PD-1/PD-L1 차단을 측정하였다.

[1095] T 세포 사이토카인 방출 검정 (표적 세포의 존재 하에 차선의 자극된 일차 T 세포를 사용함)을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 인간 pan T 세포 (도너 PBMC로부터 정제됨, 상기 참고)를 검정 배지에 재현탁하고 조직 배양 인큐베이터에 밤새 놓아두었다. TA 양성 표적 세포 (예컨대, CHO/PD-L1 세포, JIMT-1 세포, N87 세포), 및 대조군 TA 음성 세포 (예컨대, CHO 세포)를 배양으로부터 얻었다. 세척 후, 표적 세포 (도 및 아래에서 표시된 수)를 평평한 바닥 밝은 96-웰 플레이트에 사전 시딩하고 조직 배양 인큐베이터에 밤새 놓아두었다. 다음날, 휴지기 인간 pan T 세포를 밀도 및 생존력에 대해 Beckman Coulter Vi-Cell 카운터를 사용하여 트립판 블루 배제

에 의해 측정하고 2×10^6 세포/mL의 밀도로 조정하였다. 다음날 상층액을 버리고 50 μ L의 연속 희석된 테스트 물품 (항체, 디아바디, 3가 분자, 등), 50 μ L의 2.0×10^6 비드/mL의 사전 세척된 다이내비드 α CD3 (REF 11151D; Invitrogen by Thermo Fisher Scientific), 50 μ L/웰의 2.0×10^6 세포/mL의 인간 pan T 세포, 및 50 μ L의 검정 배지를 검정 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트 상의 각 웰의 최종 부피는 200 μ L였다. 테스트 물품 또는 α CD3 비드를 함유하지 않은 대조군 웰의 경우, 검정 배지를 첨가하여 총 부피를 200 μ L로 만들었고 플레이트를 72시간 동안 조직 배양 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 그런 후 상층액을 각 웰로부터 수집하고 IFN- γ 및 IL-2의 방출된 사이토카인을 사이토카인 ELISA 키트 (예컨대, R&D System (인간 IL-2 DuoSet ELISA (Cat: DY202), 인간 IFN-감마 DuoSet ELISA (Cat: DY285) 또는 유사한 상업적 시약)를 제조사의 설명에 따라 사용하여 측정하였다. 마이크로소프트 엑셀 및 SoftMax Pro를 데이터 분석에 사용하여 사이토카인 수준을 추론하였고, Prism으로 플롯팅하였다.

[1096] 시노물구스 원숭이 혈청 중의 **CD137 x TA 결합 분자**의 정량화를 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: 검정 플레이트를 2.0 μ g/mL의 His-태그 가용성 인간 CD137 용합 단백질 (huCD137) (히스티딘 함유 펩타이드에 용합된 인간 CD137의 세포외재성 부분을 함유함)로 밤새 코팅시켰다. 비특이적 부위를 0.1% Tween-20이 첨가된 인산염 완충 식염수 (PBS) (PBST) 중의 0.5% 소 혈청 알부민 (BSA)으로 차단하고, 플레이트를 **CD137 x TA 결합 분자** 표준 보정자, 품질 대조군 및 테스트 샘플과 함께 인큐베이션하였다. 고정된 huCD137-His는 표준 보정자, 품질 대조군 및 테스트 샘플에 존재하는 **CD137 x TA 결합 분자**를 포획한다. 포획된 **CD137 x TA 결합 분자**를 0.05 μ g/mL 염소 항-인간 IgG(Fc)-HRP의 첨가에 의해 검출하였다. 결합된 HRP 활성을 Thermo Scientific SuperSignal ELISA Pico 화학발광 기질을 사용하여 발광 광 생성에 의해 정량화하였다. 상대 광단위 (RLU)로서 표시된 발광 강도를 Victor X4 플레이트 판독기에 의해 측정하였다. 표준 곡선을 AEX3370 표준으로부터의 RLU 신호를 5-매개변수 로지스틱 모델과 피팅함으로써 생성하였다. 그런 후 혈청 샘플 중의 **CD137 x TA 결합 분자**의 농도를 샘플의 RLU 신호 및 표준 곡선을 설명하는 방정식으로부터 보간하였다. 검정에 대한 정량화의 하한 (LLOQ)은 6.1 ng/mL이었다.

[1097] T 세포 및 NK 세포 증식 검정을 본질적으로 다음과 같이 수행하였다: CD3, CD4, CD8, CD56 및 CD159a를 포함하는 T 세포 및 NK 세포 마커 항체의 패널을, 시노물구스 원숭이 연구로부터 얻어진 잘 혼합된 항응고 전혈 샘플을 함유한 샘플 플레이트 웰에 첨가하고, 피펫을 사용하여 철저히 혼합하고, 암실에서 25-35분 동안 주변 온도에서 인큐베이션하였다. 그런 후 1x BD FACS 용해 용액을 각 웰에 첨가하고 피펫을 사용하여 혼합하였다; 그런 후 각 플레이트를 암실에서 추가로 10-20분 동안 주변 온도에서 인큐베이션하였다. 각각의 플레이트를 400 x g에서 5분 동안 원심분리하고 상층액을 버렸다. FACS 완충액을 각 웰에 첨가하고 세척 단계와 같이 혼합하였다. 그런 후 각 플레이트를 400 x g에서 5분 동안 원심분리하고 상층액을 버렸다.

[1098] 세포 펠릿을 BD Cytotfix/Cytoperm 용액으로 재현탁하고 20-40분 동안 2-8°C에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션이 끝났을 때, 각각의 플레이트를 이전 세척 단계와 같이 세척하고, 세포 펠릿을 Ki67 항체 또는 아이소타입 대조군과 함께 재현탁하고 30-60분 동안 2-8°C에서 인큐베이션하였다. 각각의 플레이트를 다시 이전 세척 단계에서와 같이 세척하고 세포 펠릿을 최종적으로 FACS 완충액에 재현탁하고 샘플을 BD FACSCanto II 세포 분석기로 분석하였다. CD3⁺CD8⁺Ki67⁺ 및 CD56⁺CD159a⁺Ki67⁺ 집단을 각각 모니터링함으로써 T 세포 및 NK 세포의 증식을 정량화하였다.

[1099] 실시예 2

[1100] 인간 비-차단 항-CD137 mAb의 분리 및 특성화

[1101] 특히 상이한 **CD137 x TA 결합 분자**에 통합될 때 개선된 특성을 가진 CD137 결합 도메인을 확인하기 위하여, 인간 CD137에 대해 특이적인 완전한 인간 가변 도메인을 가진 단클론성 항체의 패널을 TRIANNI 마우스® 플랫폼을 사용하여, 마우스를 His-태그 가용성 인간 CD137 용합 단백질 (huCD137) (히스티딘 함유 펩타이드에 용합된 인간 CD137의 세포외재성 부분을 함유함)로 면역화함으로써 생성하였다. 결과적으로 생성된 하이브리도마로부터의 상층액을 CD137 리포터 검정에서 용량 의존성 T 세포 신호 변환을 매개하는 능력인 CD137 결합에 대해, 및 T 세포로부터 사이토카인 (예컨대, IFN- γ , TNF- α) 방출을 유도하는 능력에 대해 평가하였다. 여러 하이브리도마의 VH 및 VL 도메인을 클로닝하고 인간 IgG1 (L234A/L235A) 항체로서 CHO 세포에서 발현시키고 결합 친화성, 리간드 차단 활성, 세포 표면에서 CD137에 대한 결합에 대해, 그리고 다시 CD137 리포터 및 사이토카인 방출 검정들 다에서 평가하였다. 무관한 음성 대조군 항체 및/또는 이전에 기술된 키메라 항-CD137 항체 chCD137 MAB-3 (WO 2018/156740 및 상기 참고)를 이들 평가에 포함시켰다. 그러한 평가에 사용된 방법은 상기에서 제공된다.

CD137 MAB-6 (1.1)으로 표시된 하나의 항체를 추가 연구를 위해 선택하였다. VH 및 VL 도메인 CD137 MAB-6 (1.1)의 아미노산 서열은 상기에서 제공되며 이들 평가로부터의 대표적인 결과를 표 7A-D에 요약한다.

표 7

[1102]

표 7A - 하이브리도마 상층액										
		리포터 검정 (RLU)				ELISA (EC50 ng/mL)				
항체 (농도)	IgG 농도								huCD137	cyCD137
	0.02 µg/mL		0.1 µg/mL							
CD137 MAB-6 (1.1)	3280		11670		38		49			
chCD137 MAB-3	5540		18650		34		44			
비특이적 mAb	1020		1240		-		-			
표 7B - 하이브리도마 상층액										
T 세포 검정 - 사이토카인 방출										
		IL-2				IL-10				
		도너 1		도너 2		도너 1		도너 2		
(농도)		0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	
항체										
CD137 MAB-6 (1.1)		25	307	172	402	35	393	204	973	
chCD137 MAB-3		124	223	313	628	52	63	225	391	
비특이적 mAb		16	29	27	29	33	35	45	54	
		TNF- α				IFN- γ				
		도너 1		도너 2		도너 1		도너 2		
(농도)		0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	0.1 µg/mL	1 µg/mL	
항체										
CD137 MAB-6 (1.1)		76	908	355	702	116	2901	546	2573	
chCD137 MAB-3		275	368	370	508	194	303	287	455	
비특이적 mAb		35	113	68	102	33	92	56	99	
표 7C - CHO 세포 상층액										
		리간드	SPR			표면 결합				
		차단	kon, 1/(Ms)	koff, 1/s	KD, nM	MFI max	EC50 ng/mL			
CD137 MAB-6 (1.1)		없음	4.2E+5	6.7E-3	16	5745	21			
chCD137 MAB-3		있음	6.6E+5	2.5E-2	38	6046	10			
비특이적 mAb		-	-	-	-	149	-			
표 7D - CHO 세포 상층액										
		리포터 검정 (RLU)	일차 T 세포 검정							
			도너 1							
(농도)		0.08	0.1	0.1						
항체		µg/mL	µg/mL	µg/mL						
CD137 MAB-6 (1.1)		8530	174	101						
chCD137 MAB-3		9170	63	45						
비특이적 mAb		1250	0	6						

[1103]

에피토프 비닝(binning)을 교차 결합 연구에 의해 수행하였다. 이들 및 리간드 결합 결합 연구의 결과는 CD137 MAB-6이 유토밀루맘의 가변 도메인을 포함하는 비교기 항체, 우렐루맘의 가변 도메인을 포함하는 비교기 항체, 및 chCD137 MAB-3을 포함하여 WO 2018/156740에서 기술된 모든 항-CD137 항체와 구별되는 에피토프에 결합하는 것을 나타낸다. 요약하면, 이들 연구는 CD137 MAB-6이 독특한 비차단 에피토프에 결합하고 ELISA, FACS 및 BIACORE™ 검정에 의해 측정되는 바 이전에 기술된 chCD137 MAB-3보다 더 나은 결합 친화성을 나타내는 것을 입증한다. CD137 MAB-6은 또한 T 세포 사이토카인 방출 검정에서 더 높은 활성을 나타낸다.

[1104]

실시예 3

- [1105] **CD137 x TA 결합 분자의 특성화**
- [1106] CD137 및 대표적인 TA인 PD-L1에 결합할 수 있는 **CD137 x TA 결합 분자**를, **CD137 MAB-6(1.1)** 및 **hPD-1 MAB-2(1.1)**의 VH 및 VL 도메인을 통상시킴으로써 생성하였다. 특히, 2개의 동일한 이중특이적 디아바디 결합 도메인을 포함하며 **도 1B**에 도시된 항체 유사 Y자 구조를 가지는, "**DART-A**"로 표시된 4가 이중특이적 디아바디 및 **도 3A**에 도시된 구조를 가지는 하나의 단일특이적 디아바디형 결합 도메인, 및 비-디아바디형 결합 도메인을 포함하는, "**TRIDENT-A**"로 표시된 3가 결합 분자가 생성되었다. 이들 분자, 및 동일한 구조를 가지는 특정 이중특이적 대조군 및 비교기 분자의 도메인 속성은 상기에서 논의된다 (예컨대, **표 5-6** 참고).
- [1107] **DART-A**, **TRIDENT-A**, 비교기 분자 **TRIDENT-2 (hCD137 MAB-3(1B.3))**의 결합 도메인을 포함함), 및 음성 대조군 (**hIgG1** - 아이소타입 대조군과 같이 무관한 항체)을 세포 표면 CD137에 결합하는 능력에 대해 본질적으로 위에서 기술된 것과 같이 수행된 FACS 분석에 의해 평가하였고, 테스트 물품을 10 µg/mL 및 5배 연속 희석 농도에서 사용하였다. **도 4**에서 도시된 대표적인 검정의 결과는 모든 **CD137 x PD-L1** 이중특이적 분자가 세포 표면에서 발현된 CD137에 효율적으로 결합할 수 있었음을 입증한다. 이 검정에서 비교 분자는 더 나은 결합을 나타내는 것으로 여겨진다.
- [1108] **DART-A**, **TRIDENT-A**, **hPD-1 MAB-2(1.1)**, 및 음성 대조군인 **hIgG1**을 PD-L1을 발현하는 CHO 세포 (CHO/PD-L1)의 표면에 결합하는 능력에 대해 FACS 분석에 의해, 그리고 PD-1/PD-L1 축에 길항하는 능력 (즉, PD-1/PD-L1 상호작용을 차단하고 T 세포 반응의 하향 조절을 방지하는 능력)에 대해 Jurkat-luc-NFAT/CHO/PD-L1 루시페라제 리포터 검정으로 평가하였고, 이 두 검정은 모두 본질적으로 상기에서 기술된 것과 같이 수행되었다. 테스트 물품을 FACS 분석의 경우 10 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였고 PD-L1 리포터 검정에 대해 50 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였다. **도 5A-5B**에 도시된 대표적인 검정의 결과는 **DART-A** 및 **TRIDENT-A**가 세포 표면에서 발현된 PD-L1에 효율적으로 결합할 수 있고 (**도 5A**), PD-1/PD-L1 상호작용을 효율적으로 차단할 수 있음 (**도 5B**)을 입증한다. 2개의 PD-L1 결합 부위 (**DART-A**, 및 **hPD-1 MAB-2(1.1)**)를 가진 분자의 결합 곡선은 더 빠르게 포화에 도달하는 것이 주지될 것인데, 이것은 분자의 일부가 2가 결합 (즉, 표면에서 2개의 PD-L1 분자에 결합함)을 나타내는 것을 시사한다. 2가 결합은 CHO/PD-L1 세포 상에 발현된 표적 리간드가 고농도로 존재할 가능성이 더 많다. 또한 2개의 PD-L1 결합 부위를 가진 분자가 3가 분자에 비해 더 큰 PD-L1 차단 활성을 나타내는 것으로 관찰되었다.
- [1109] **DART-A**, **TRIDENT-A**, 비교기 분자: **DART-2**, 및 **TRIDENT-2** (각각은 **hCD137 MAB-3(1B.3)**의 결합 도메인을 포함함), **DART-3** (유포밀루맵의 결합 도메인을 포함함), 작용성 항-CD137 mAb 우렐루맵의 복제물 (**r-우렐루맵**), 및 음성 대조군: **DART-1** (RSV x PD-L1 결합 분자) 및 **hIgG1**의 기능적 활성을 PD-L1 발현 JIMT-1 세포 (웰당 10,000개 세포)의 존재 및 부재 하에 본질적으로 상기 기술된 것과 같이 수행된 CD137 리포터 검정으로 평가하였고, 테스트 물품을 1 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였다. **도 6**에 도시된 대표적인 검정의 결과는 결합 도메인 **CD137 MAB-6 (1.1)**을 포함하는 4가 및 3가 **CD137 x PD-L1** 이중특이적 분자 (각각 **DART-A** 및 **TRIDENT-A**)는 모두 표적 의존성 신호 변환을 매개한 것을 입증하며, 대조적으로 **hCD137 MAB-3(1B.3)**의 결합 도메인을 포함하는 3가 분자 (**TRIDENT-2**)만이 활성을 나타낸 한편, 상응하는 4가 분자 **DART-2**는 표적 세포의 존재 하에 어떠한 활성도 나타내지 않았다. 추가적으로, **DART-A**는 테스트된 모든 4가 분자 중 최고 활성을 나타냈다. **CD137 x TA** 이중특이적 분자 중 어느 것도 표적 세포의 부재 하에 활성을 나타내지 못했다. 예상했던 것과 같이, 작용물질 **r-우렐루맵**은 PD-L1을 발현하는 표적 세포의 존재 및 부재 하에 활성을 나타냈고, 음성 대조군은 전혀 활성을 나타내지 못하였다.
- [1110] **DART-A**, **TRIDENT-A**, 비교기 분자: **DART-2**, **TRIDENT-2**, **DART-3**, **r-우렐루맵**, 및 음성 대조군: **DART-1** 및 **hIgG1**의 기능적 활성을 또한 PD-L1 발현 JIMT-1 세포 (웰당 10,000개 세포)의 존재 하에 본질적으로 상기 기술된 것과 같이 수행된 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정으로 평가하였고, 테스트 물품을 1 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였다. 대표적인 사이토카인 INF- γ 및 IL-2에 대한 대표적인 검정의 결과를 각각 **도 7A** 및 **7B**에 도시한다. CD137 리포터 검정에서 알 수 있는 것과 같이, 결합 도메인 **CD137 MAB-6(1.1)**을 포함하는 4가 및 3가 **CD137 x PD-L1** 이중특이적 분자 (각각 **DART-A** 및 **TRIDENT-A**)는 모두 사이토카인 방출을 매개하였고, 대조적으로 **hCD137 MAB-3(1B.3)**의 결합 도메인을 포함하는 3가 분자 (**TRIDENT-2**)만이 활성을 나타낸 한편, 4가 분자 **DART-2**는 어떠한 활성도 나타내지 못하였다. 다시 **DART-A**는 테스트된 모든 4가 분자 중 최고 활성을 나타냈고 음성 대조군은 활성을 나타내지 못하였다.
- [1111] 이들 연구는 완전한 인간 결합 도메인 **CD137 MAB-6(1.1)**이 4가 및 3가 **CD137 x TA** 이중특이적 분자에서 모두 활성이며, PD-L1 발현 표적 세포의 부재 하에 작용물질 활성을 나타내지 않는 것을 입증한다. 비록 **TRIDENT-2**가

CHO/CD137 세포에 대해 더 높은 결합을 나타냈지만, TRIDENT-A와 TRIDENT-2의 활성은 비슷한 한편 DART-2는 어느 기능성 검정에서도 활성을 나타내지 못하였다. 실제로, CD137 MAB-6(1.1)은 hCD137 MAB-3(1B.3)의 도메인을 포함하는 분자 또는 유토밀루맘보다 도 1B에 도시된 4가 항체 유사 구조에서 보다 더 활성이다.

[1112] 실시예 4

[1113] CD137 x TA 분자의 약동학

[1114] 3가 CD137 x TA 이중특이적 분자 TRIDENT-A (CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함함) 및 TRIDENT-2 (hCD137 MAB-3(1B.3)의 결합 도메인을 포함함)의 약동학을 시노물구스 원숭이에서 평가하였다. 간단히 설명하면, 2마리의 시노물구스 원숭이 (암컷)를 1 mg/kg 또는 10 mg/kg의 단일 용량의 각각의 테스트 물품을 주입하고 (4개 그룹) 동물을 22일 동안 모니터링하였고, 부검은 실시하지 않았다. 동물을 사료 섭취, 체중, 및 전체 혈액학에 대해 모니터링하였고, 임상 화학을 연구 중에 수행하였다. 간 효소 (ALT, AST, 및 빌리루빈)의 일시적인 증가가 관찰되었다. 테스트 물품은 잘 허용되었고 부작용은 관찰되지 않았다.

[1115] 시간 경과에 따른 분자의 혈청 농도를 본질적으로 상기 기술된 것과 같이 모니터링하였다. Cmax, AUC, t1/2베타 및 CL 값을 표 8에 표시하였는데, CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함하는 3가 CD137 x TA 이중특이적 분자가 hCD137 MAB-3(1B.3)을 포함하는 것보다 약 2배 더 긴 혈청 반감기를 나타내는 것을 보여준다. 첫 번째 10일 (240시간) 동안 TRIDENT-A의 혈청 농도는 도 8A에 플롯팅한다. 더불어, CD8⁺ T 세포 (도 8B), 및 NK 세포 (도 8C)의 증식을 본질적으로 위에서 기술한 것과 같이 조사하였다. 이 연구는 신규한 항-CD137 항체 CD137 MAB-6의 CD137 결합 도메인을 포함하는 대표적인 CD137 x TA 이중특이적 분자 TRIDENT-A가 CD8⁺ T 세포 및 NK 세포 둘다의 증식의 일시적인 유도과 상관이 있는 느린 제거율 및 투여를 나타냈고, 이것은 이들 면역 세포의 자극을 나타내는 것임을 보여준다. 더불어, 위에서 주지된 것과 같이 CD137 MAB-6은 4가 항체 유사 구조에서 더 많은 활성을 보인다. 그러므로, CD137 MAB-6 결합 도메인은 이전에 기술된 CD137 결합 도메인과 비교하여 여러 장점을 제공한다.

표 8

[1116]

표 8: 약동학						
분자	용량	동물	Cmax	AUC	t1/2 베타	CL
	(mg/kg)	ID	(ug/mL)	(hr*ug/mL)	(hr)	(mL/hr/kg)
TRIDENT-A	1	1F001	28	1598	98	0.48
		1F002	32	1968	148	0.32
TRIDENT-A	10	2F003	242	18752	217	0.30
		2F004	293	21333	167	0.27
TRIDENT-2	1	5F009	31	1227	29	0.81
		5F010	26	945	42	0.97
TRIDENT-2	10	6F011	282	10313	100	0.78
		6F012	293	11486	99	0.69

[1117] 실시예 5

[1118] hPD-1 MAB-2 (1.1) 가변 도메인의 탈면역화 및 최적화

[1119] 온전한 hPD-1 MAB-2(1.1) 항체를, 항원 제공 세포에 의해 제공될 수 있을 펩타이드 클러스터를 확인하기 위하여 MAPP 검정 (수퍼패밀리 구성원에 의해 수행됨)을 사용하여 분석하였다. 그런 후 hPD-1 MAB-2(1.1)의 VH 및 VL 도메인의 아미노산 서열의 iTope™ 인실리코 분석을 수행하였고, 이때 펩타이드 클러스터를 중복되는 9-mer 펩타이드 (인접한 펩타이드 사이에서 8 aa가 중복됨)로 나누고 9-mer 펩타이드의 HLA-DR 단백질에 대한 결합 친화도를 예측하였으며 9-mer 펩타이드를 실험적으로 T 세포 반응을 자극하는 것으로 알려져 있는 펩타이드의 데이터 베이스에 대해 교차체크하였다. hPD-1 MAB-2 VH1의 프레임워크 영역 2의 Kabat 잔기 72-88 (서열 번호:57의 잔기 73-92에 상응함)내에 있는 잠재적 T 세포 에피토프가 확인되었다. 추가의 분석으로 3개의 비-생식선 아미노산: T77, K83, 및 T84를 확인하였고, 이 영역에서 Kabat에 따라 넘버링하고 (서열 번호:57의 잔기 T78, K87, 및 T88에 상응함) 다음의 치환을 도입하였다: Kabat에 따라 넘버링된 T77S; K83R 및 T84A; 또는 T77S, K83R 및 T84A. 이들 치환을 포함하는 항체의 결합을 His 태그에 융합된 가용성 PD-L1 (shPD-L1)에 대한 결합에 대해 본

질적으로 플레이트를 0.5 μg/mL의 shPD-L1로 코팅하고 염소 항-인간 IgG-HRP 이차 항체를 사용한 것을 제외하고 CD137에 대해 위에서 기술한 것과 같이 ELISA 검정을 사용하여 평가하였다. 결과를 표 9에 요약한다.

표 9

[1120]

표 9: shPD-L1 ELISA의 요약	
항체	결합
hPD-1 MAB-2 VH1	++++
hPD-1 MAB-2 VH1 + T77S	++
hPD-1 MAB-2 VH1 + K83R 및 T84A	+++
hPD-1 MAB-2 VH1 + T77S, K83R 및 T84A	++++

[1121]

모든 탈면역화된 변이체는 모 항체와 구별할 수 없는 결합을 나타내는 T77S, K83R 및 T84A 치환을 포함하는 변이체와 함께 shPD-L1에 결합하였다. 이들 돌연변이를 포함하는 VH를 hPD-L1 MAB-2 VH2로 지정하였다.

[1122]

더불어, shPD-L1에 대한 결합을 향상시킨 hPD-L1 MAB-2(1.1)의 VH 및/또는 VL 도메인의 CDR의 아미노산 치환을 확인하기 위하여 돌연변이 분석을 수행하였다. 개선된 결합을 초래한 많은 치환을 확인하였고 Kabat 넘버링 시스템을 사용하여 제공된 치환 및 상기 제공된 서열의 상응하는 아미노산 잔기를 표시하면서 표 10에 제공한다. 이들 치환의 상이한 조합을 포함하는 Fab 단편의 shPD-L1-his에 대한 결합을 본질적으로 염소 항-인간 카파-HRP 이차 항체를 사용한 것을 제외하고 상기 기술된 것과 같은 ELISA에 의해 평가하였다. 평가한 대표적인 변이체를 표 11에 요약하며, 결합 곡선을 도 9A-9B에 제공한다. 이들 연구는 변이체 (도 9A에 플롯팅된 hPD-L1 MAB-2B, hPD-L1 MAB-2D, 및 hPD-L1 MAB-2F; 도 9B에 플롯팅된 hPD-L1 MAB-2A, hPD-L1 MAB-2C, 및 hPD-L1 MAB-2E) 각각을 포함하는 Fab가 모 hPD-L1 MAB-2(1.1)을 포함하는 Fab보다 더 높은 친화도를 나타낸 것을 보여준다.

표 10

[1123]

표 10: CDR 치환			
VH 도메인		VL 도메인	
Kabat*	서열 번호:57^	Kabat*	서열 번호:58^
S31G	31	T31E	31
G53K	54	D28H 또는 D28V 또는 D28L	28
Q95A 또는 Q95G	99	S52E	52
F100aG	105		

[1124]

* Kabat에 따르는 치환 넘버링

[1125]

^ 표시된 서열 번호의 상응하는 아미노산 잔기 번호

표 11

[1126]

표 11: CDR 치환을 포함하는 hPD-L1 MAB-2 변이체	
변이체	치환*
hPD-L1 MAB-2A	VH(S31G/G53K/Q95A) & VL(D28H)
hPD-L1 MAB-2B	VH(S31G/G53K/Q95G) & VL(D28V)
hPD-L1 MAB-2C	VH(S31G/G53K/F100aG) & VL(D28L)
hPD-L1 MAB-2D	VH(F100aG) & VL(D28L/S52E)
hPD-L1 MAB-2E	VH(G53K/Q95A) & VL(D28L)
hPD-L1 MAB-2F	VH(G53K/F100aG) & VL(T31E)

[1127]

* Kabat에 따르는 치환 넘버링

[1128]

hPD-L1 MAB-2의 많은 변이체 VH 및/또는 VL 도메인을 사용하여 CD137 x TA 이중특이적 분자 (전부 2개의 CD137 MAB-6(1.1) 결합 부위를 포함함)를 생성하였다. 사용한 특별한 hPD-L1 MAB-2 VL 및 VH 변이체를 표 12에 요약하고, 이들 변이체의 아미노 서열 및 그것을 포함하는 이중특이적 분자를 상기 제공한다. 위에서 주지된 것과 같

이 PD-L1 MAB-2 VH/VL 도메인을 포함하는 분자를 구체적인 VH/VL 도메인을 참조하여 언급하는데, 예를 들어, 결합 도메인 PD-L1 MAB-2 VH3 및 hPD-L1 MAB-2 VL2를 포함하는 분자는 구체적으로 "PD-L1 MAB-2(3.2)"로서 언급된다.

표 12

[1129]

표 12: hPD-L1 MAB-2 변이체 VH 및 VL 도메인	
변이체	치환*
hPD-L1 MAB-2 VH2	T77S/K83R/T84A
hPD-L1 MAB-2 VH3	T77S/K83R/T84A + G53K/F100aG
hPD-L1 MAB-2 VH4	T77S/K83R/T84A + Q95A
hPD-L1 MAB-2 VH5	T77S/K83R/T84A + G53K/Q95A
hPD-L1 MAB-2 VH6	T77S/K83R/T84A + Q95A/ F100aG
hPD-L1 MAB-2 VL2	VL(T31E)

[1130]

* Kabat에 따르는 치환 넘버링

[1131]

2개의 PD-L1 결합 부위를 포함하는 다음의 분자: DART-A1 (hPD-L1 MAB-2(2.1)을 포함함); DART-A4 (hPD-L1 MAB-2(3.2)를 포함함); 및 hPD-L1 MAB-2(1.1), 및 하나의 PD-L1 결합 부위를 포함하는 다음의 분자: TRIDENT-A (상기에서 상세하게 설명됨); 및 TRIDENT-A4 (hPD-L1 MAB-2(3.2)를 포함함)를 JIMT-1 세포 표면에서 PD-L1 결합에 대해 본질적으로 FACS 분석에 의해 위에서 기술된 것과 같이 평가하였고, 이때 테스트 물품을 1 µg/mL 및 4배 연속 희석으로 사용하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 10A-10B에 도시한다. 이들 분자를 또한 PD-1/PD-L1 상호작용을 차단하는 능력에 대해 테스트 물품을 25 µg/mL 및 4배 연속 희석으로 사용하여 본질적으로 상기 기술된 PD-L1 리포터 검정으로 조사하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 11A-11B에 도시한다. 이들 데이터는 탈면역화된/최적화된 hPD-L1 MAB-2(3.2)의 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 이중특이적 분자가 개선된 결합 (도 10A-10B) 및 보다 효율적인 상호작용의 차단 (도 11A-11B)을 나타냈음을 보여준다. 2개의 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 4가 분자 (도 10A 및 11A의 DART-A4)에서 적당한 개선을 볼 수 있었고, 활성의 더 큰 개선은 하나의 PD-L1 결합 도메인만을 포함하는 3가 분자 (도 10B 및 11B의 TRIDENT-A4)에서 볼 수 있었다. 2개의 PD-L1 결합 부위를 포함하는 추가의 분자: DART-A4 (hPD-L1 MAB-2(3.2)를 포함함); DART-A7 (hPD-L1 MAB-2(4.2)를 포함함); DART-A8 (hPD-L1 MAB-2(5.2)를 포함함); 및 DART-A9 (hPD-L1 MAB-2(6.2)를 포함함)를 PD-1/PD-L1 상호작용을 차단하는 능력에 대해, 테스트 물품을 1.5 µg/mL 및 2배 연속 희석으로 사용하여 본질적으로 상기 기술된 PD-L1 리포터 검정으로 평가하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 11C에 도시한다. 이 연구는 대체 탈면역화된/최적화된 hPD-L1 MAB-2(4.2), hPD-L1 MAB-2(5.2), 및 hPD-L1 MAB-2(6.2)를 포함하는 CD137 x TA 이중특이적 분자가 hPD-L1 MAB-2(3.2)를 포함하는 DART -A4의 차단 활성과 비교하여 유사하거나 개선된 차단 활성을 나타내는 것을 보여준다.

[1132]

실시예 6

[1133]

CD137 MAB-6의 탈면역화

[1134]

면역원성의 가능성을 최소화하기 위하여 CD137 MAB-6의 VL 도메인의 프레임워크 영역에 치환을 도입하여 비-생식선 잔기를 인간 생식선에 존재하는 잔기로 대체하였다. 특히, 다음의 치환의 조합: Kabat에 따라 넘버링된 T14S, F36Y 및 I39K (서열 번호:50의 잔기 14, 37, 및 40에 상응함)를 도입하였고 결과적으로 생성된 CD137 MAB-6 VL 도메인을 아래의 표 13에 요약하며, CD137 및 대표적인 TA인 PD-L1에 결합할 수 있는 CD137 x TA 이중특이적 분자를 생성하기 위해 사용하였고, 이들 변이체의 아미노산 및 그것을 포함하는 이중특이적 분자는 위에서 제공된다.

표 13

[1135]

표 13: CD137 MAB-6 변이체 VL 도메인	
변이체	치환*
CD137 MAB-6 VL2	T14S/F36Y/I39K
CD137 MAB-6 VL3	T14S/I39K

- [1136] * Kabat에 따르는 치환 넘버링
- [1137] 2개의 hPD-L1 MAB-2(3.2) 결합 부위를 포함하는 다음의 분자: DART-A4 (CD137 MAB-6(1.1)을 포함함); DART-A5 (CD137 MAB-6(1.2)를 포함함); DART-A6 (CD137 MAB-6(1.3)을 포함함); 및 하나의 hPD-L1 MAB-2(3.2) 결합 부위를 포함하는 다음의 분자: TRIDENT-A4 (CD137 MAB-6(1.1)을 포함함); TRIDENT-A5 (CD137 MAB-6(1.2)를 포함함); 및 TRIDENT-A6 (CD137 MAB-6(1.3)을 포함함), 우렐루맵의 복제물 (r-우렐루맵), 및 음성 대조군 hIgG1을 세포 표면 CD137에 결합하는 능력에 대해 본질적으로 위에서 기술한 것과 같이 수행된 FACS 분석에 의해, 테스트 물품을 3 µg/mL 및 4배 연속 희석으로 사용하여 평가하였다. 도 12A-12B에 도시된 대표적인 검정의 결과는 CD137 MAB-6(1.3)의 결합 도메인을 포함하는 4가 (도 12A) 및 3가 (도 12B) CD137 x PD-L1 이중특이적 분자가 CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함하는 동일한 분자와 거의 동일한 결합 프로파일을 나타내는 한편, CD137 MAB-6(1.2)를 포함하는 것들은 감소된 결합을 나타낸 것을 보여준다.
- [1138] DART-A4, DART-A5, DART-A6, r-우렐루맵, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, 및 TRIDENT-A6, 및 음성 대조군 hIgG1의 기능적 활성을 PD-L1 발현 N87 표적 세포 (웰당 10,000개 세포) 또는 JIMT-1 세포 (웰당 20,000개 세포)의 존재 및 부재 하에 본질적으로 위에서 기술한 것과 같이 수행된 CD137 리포터 검정으로, 테스트 물품을 1 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하여 조사하였다. 도 13A-13B에 도시된 대표적인 검정의 결과는 모든 분자가 N87 세포의 존재하에서 (PD-L1⁺, 도 13A)보다 JIMT-1 세포의 존재 하에서 (PD-L1⁺, 도 13B) 더 높은 활성으로 표적 의존성 방식으로 활성을 나타낸 것을 보여준다. CD137 MAB-6(1.3)의 결합 도메인을 포함하는 CD137 x PD-L1 이중특이적 분자는 CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함하는 동일한 분자와 거의 동일한 활성 프로파일을 나타낸 한편, CD137 MAB-6(1.2)를 포함하는 것들은 감소된 활성을 나타냈다. CD137 x PD-L1 이중특이적 분자 중 어느 것도 표적 세포의 부재시에 활성을 나타내지 않았다. 예상했던 바와 같이, 작용물질 r-우렐루맵은 PD-L1 발현 표적 세포의 존재 및 부재 하에 활성을 나타냈고, 음성 대조군은 활성을 전혀 나타내지 않았다.
- [1139] DART-A4, DART-A5, DART-A6, r-우렐루맵, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, 및 TRIDENT-A6, 및 음성 대조군 hIgG1의 기능적 활성을, PD-L1 발현 JIMT-1 세포 (웰당 10,000개 세포)의 존재 하에 본질적으로 상기에서 기술된 것과 같이 수행된 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정으로, 1 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하여 조사하였다. 대표적인 사이토카인 INF-γ 및 IL-2에 대한 대표적인 검정의 결과를 각각 도 14A 및 14B에 도시한다. CD137 리포터 검정에서 알 수 있는 것과 같이, CD137 MAB-6(1.3)의 결합 도메인을 포함하는 CD137 x PD-L1 이중특이적 분자는 CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함하는 동일한 분자와 거의 동일하거나, 약간 더 나은 활성 프로파일을 나타낸 한편, CD137 MAB-6(1.2)를 발현하는 것들은 감소된 활성을 나타냈다.
- [1140] 실시예 7
- [1141] CD137 x TA 분자의 추가 특성확인
- [1142] 추가의 시험관내 연구를 수행하여 PD-L1 MAB-2, 신규한 CD137 MAB-6의 PD-L1 및 CD137 결합 도메인, 또는 그것들의 탈면역화된/최적화된 변이체를 포함하는 다음의 대표적인 CD137 x PD-L1 이중특이적 분자: DART-A; DART-A4; DART-A6; DART-A7; TRIDENT-A; TRIDENT-A4; TRIDENT-A6; 및 추가의 4가 분자: DART-A10 (2개의 hPD-L1 MAB-2(4.2) 결합 부위 및 2개의 CD137 MAB-6(1.3) 결합 부위를 포함함)의 활성을 평가하였다. 이들 분자의 CD137 및 PD-L1 결합 도메인은 상기 표 5에 요약되어 있다.
- [1143] DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, 음성 대조군 hIgG1, 항-PD-L1 항체 아테졸리주맵의 복제물 (r-아테졸리주맵), hPD-L1 MAB-2F 또는 r-우렐루맵을 PD-L1를 발현하는 CHO 세포 (CHO/PD-L1) 또는 CD137을 발현하는 CHO 세포 (CHO/CD137)의 표면에 결합하는 능력에 대해 본질적으로 위에서 기술된 것과 같은 FACS 분석에 의해 테스트 물품을 3 µg/mL의 출발 농도 및 3 내지 4배 희석으로 사용하여 평가하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 15A-15B에 도시한다. 이들 결합 연구는 최적화된 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자 (DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10)가 DART-A와 비교하여 PD-L1에 대해 개선된 결합을 나타내는 것을 입증한다 (도 15A). 유사한 PD-L1 결합 프로파일을 JIMT-1 (PD-L1⁺) 세포에 대한 결합에 대해 관찰하였다. 이들 연구는 또한 CD137 MAB-6(1.3) 및 CD137 MAB-6(1.1)의 결합 도메인을 포함하는 CD137 x TA 결합 분자가 r-우렐루맵과 비교하여 개선된 유사한 활성을 나타내는 것을 입증한다 (도 15B).
- [1144] DART-A, DART-A4, DART-A6, DART-A7, DART-A10, TRIDENT-A, TRIDENT-A4, TRIDENT-A6, hPD-L1 MAB-2F, r-아테졸리주맵 및 음성 대조군 hIgG1을 PD-1/PD-L1 상호작용을 차단하는 능력에 대해, 본질적으로 위에서 기술된 것과 같은 PD-L1 리포터 검정으로 테스트 물품을 3 µg/mL 및 2배 연속 희석으로 사용하여 평가하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 16A-16B에 도시한다. 이들 연구는 다시 탈면역화된/최적화된 hPD-L1 MAB-2(3.2) 또는 hPD-L1

MAB-2(4.2)의 결합 도메인을 포함하는 4가 (도 16A) 및 3가 (도 16B) CD137 x TA 이중특이적 분자가 모 결합 도메인, hPD-L1 MAB-2(1.1)을 포함하는 분자와 비교하여 PD-1/PD-L1 상호작용의 더 효율적인 차단을 나타냈고, 향상된 활성은 CD137 결합 도메인과 무관하였음을 보여준다. 위에서 주지된 것과 같이, 이 검정에서 활성의 더 큰 개선은 하나의 PD-L1 결합 도메인을 포함하는 3가 분자에서 관찰되었고, 활성은 항-PD-L1 항체 hPD-L1 MAB-2F 및 r-아테졸리주맙 (각각 2개의 PD-L1 결합 도메인을 가짐)으로 관찰된 활성에 근접하였다.

[1145] DART-A, DART-A4, DART-A5, DART-A6, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, 및 TRIDENT-A6, r-우렐루맙, 및 음성 대조군 hIgG1의 기능적 활성을 PD-L1 발현 JIMT-1 세포 (웰당 10,000개 세포)의 존재 및 부재 하에, 테스트 물품을 1 ug/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하여 (예를 들어, 양을 도 14A의 하부에 도시함) 본질적으로 위에서 기술된 것과 같이 수행된 CD137 리포터 검정으로 조사하였다. 대표적인 검정의 결과를 도 17A-17B에 도시하고 모든 2가 분자는 JIMT-1 세포의 존재 하에 고수준의 활성을 보이며 (도 17A) 표적 세포의 부재 하에 활성을 보이지 않는 (도 17B) 표적 의존성 방식으로 활성을 나타내는 것을 입증한다. 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및 CD137 결합 도메인을 포함하는 분자는 모 도메인을 포함하는 것과 비교하여 더 높은 활성을 나타냈다 (예컨대, TRIDENT-A6 및 DART-A10). 이 검정에서, 3가 분자는 더 높은 활성을 나타내며 활성의 증가는 3가 분자의 경우 더 컸다.

[1146] DART-A, DART-A4, DART-A5, DART-A6, r-우렐루맙, TRIDENT-A4, TRIDENT-A5, 및 TRIDENT-A6, r-우렐루맙과 r-아테졸리주맙의 조합, 및 음성 대조군 hIgG1의 기능적 활성을 또한 PD-L1 발현 JIMT-1 세포 (웰당 10,000개 세포)의 존재 하에 본질적으로 위에서 기술된 것과 같이 수행된 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정으로, 테스트 물품을 1 ug/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하여 (예를 들어, 양을 도 14A의 하부에 도시함) 조사하였다. 대표적인 사이토카인 INF-γ 및 IL-2에 대한 대표적인 검정의 결과를 각각 도 18A 및 18B에 도시한다. CD137 리포터 검정에서 알 수 있는 것과 같이, 탈면역화된/최적화된 PD-L1 및 CD137 결합 도메인을 포함하는 3가 CD137 x PD-L1 이중특이적 분자 가 더 높은 활성을 나타냈다 (예컨대, TRIDENT-A6).

[1147] 실시예 8

[1148] 쥐과 이중이식 모델

[1149] 본원에 제공된 바, 본 발명의 CD137 x TA 결합 분자를 다른 본 발명의 종양 표적화제와 함께 사용할 수 있다. 대표적인 TA x CD3 이중특이적 분자, 5T4 x CD3 디아바디 (서열은 아래에 제공됨)의 항-종양 활성을 향상시키는 대표적인 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자 DART-A4, TRIDENT-A, 및 TRIDENT-A4의 능력을 생체내에서 인간 PBMC 재구성 쥐과 이중이식 모델에서 테스트하였다. 간단히 설명하면, 새롭게 분리된 PBMC (8 x 10⁶)를 연구일 (SD) 0일에 MHC1-/- 마우스의 안와 뒤쪽으로 주입하였다. SD7에, RKO 결장 암종 세포 (5 x 10⁶)를 마트리겔과의 1:1 혼합물로 피하로 주입하였다. SD7에 마우스를 OKT4로 처리하였다. SD14에 5T4 x CD3 디아바디 (0.025 mg/kg으로 주 2회)로의 처리 (정맥내), 및 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자로의 처리 (1 또는 2 mg/kg으로 주마다)를 시작하였다. 종양 성장을 캘리퍼스로 주 2회 측정하였다 (N=7마리/그룹). 도 19A-19C에서 알 수 있는 것과 같이, TA x CD3은 테스트된 농도에서 종양 성장에 대해 최소한의 억제만을 나타냈다. 그러나, PD-L1 x CD137 이중특이적 분자와 5T4 x CD3 디아바디의 조합은 종양 성장을 극적으로 억제하였다. 이 연구는 신규한 CD137 MAB-6 항체의 결합 도메인을 포함하는 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자가 생체내에서 TA x CD3 이중특이적 분자와 조합하여 종양 성장을 억제할 수 있음을 입증한다.

[1150] 또 다른 연구에서, 각각 2개의 CD137 MAB-6(1.3) 결합 부위를 포함하는 대표적인 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자 DART-A10, 및 TRIDENT-A6이 5T4 x CD3 디아바디,의 항-종양 활성을 향상시키는 능력을 조사하였다. 연구는 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자를 5일마다 (주말인 경우 4일) 0.5, 1, 또는 2.5 mg/kg으로 투여한 것을 제외하고 본질적으로 위에서 기술한 것과 같이 수행하였다. 종양 성장을 캘리퍼스로 주 2회 측정하였다 (N=8마리/그룹). 도 20A-20B에서 나타난 것과 같이, DART-A10, 및 TRIDENT-A6은 또한 5T4 x CD3 디아바디와 조합하여 종양 성장을 억제하였다. 이 연구는 탈면역화된 CD137 MAB-6 항체의 결합 도메인을 포함하는 PD-L1 x CD137 이중특이적 분자가 생체내에서 TA x CD3 이중특이적 분자와 조합하여 종양 성장을 억제할 수 있음을 입증한다.

[1151] 추가적인 조합 치료 연구에서, PD-L1 x CD137 이중특이적 분자 TRIDENT-A6, TRIDENT-A (each comprising the VH/VL of a CD137 MAB-6 결합 도메인)의 활성을 TRIDENT-2, 및 본원에서 DUO-1 (아미노산 서열을 아래에 제공됨)로 약칭된, WO 2019/025545에 기술되어 있는 "PD-L1-547-FEALxCD137-009-HC7LC2-FEAR"로 표시된 PD-L1 x CD137 DUOBODY® 이중특이적 분자의 활성과 비교하였다. 연구를, PD-L1 x CD137 이중특이적 분자를 상이한 실험에서 0.1 mg/kg 내지 5 mg/kg 범위의 농도로 5일마다 (주말인 경우 4일) 투여한 것을 제외하고 본질적으로 위에

서 기술한 것과 같이 수행하였다. 종양 성장을 캘리퍼스로 주 2회 측정하였다 (N=8마리/그룹). 2개의 연구 (주 - TRIDENT-2는 연구 1에서 1 mg/kg으로만 투여함)로부터의 대표적인 데이터를 도 21A 및 21B에 플롯팅하며 TRIDENT-A 및 TRIDENT-A6이 TRIDENT-2의 활성과 비슷하거나 약간 더 나은 항-종양 활성을 나타내며, DUO-1보다 더 활성인 것을 보여준다.

[1152] 대표적인 TA x CD3 이중특이적 분자, 상기 쥐과 이중이식 연구에 사용된 5T4 x CD3 디아바디는 5T4 종양 항원에 대한 1개의 결합 부위 및 CD3에 대한 1개의 결합 부위를 가진 2가 디아바디이다. 분자는 도 1D에 도시된 일반 구조를 가지며 다음의 3개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다:

5T4 x CD3 디아바디 사슬 1	DIQMTQSPSS LSASVGDVRT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQF EDVATYYCLQ YDDFPWFVFGQ GTKLEIKGGG SGGGGEVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VKGRFTISR DSKNSLYLQM NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVSWFAYW GQGTLVTVSS GCGGGEVAA LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGDKT HTCPCPAPE AAGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK (서열 번호: 140)
5T4 x CD3 디아바디 사슬 2	QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF GGGTKLTVLG GGGSGGGQV QLVQSGAEVK KPGASVKVSC KASGYTFTSF WMHWVRQAPG QGLEWMGRID PNRGGTEYNE KAKSRVMTA DKSTSTAYME LSSLRSEDTA VYYCAGGNPY YPMDYWQGT TTVTSSGGCG GSKVAALKEK VAALKEKVAA LKEKVAALKE (서열 번호: 141)
5T4 x CD3 디아바디 사슬 3	DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTPPVLDSDGS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNRYTQKS LSLSPGK (서열 번호: 142)

[1153] 상기 쥐과 이중이식 연구에 사용한 PD-L1-547-FEALxCD137-009-HC7LC2-FEAR 이중특이적 분자는 WO 2019/025545 에 기재된 것이다. 분자는 본원에 제공된 것과 상이한 상이한 PD-L1 및 CD137 결합 특이성을 포함하며 다음의 4 개의 폴리펩타이드 사슬을 포함한다:

VH_CD137-009-H7 IgG1- FEAR-Fc	EVQLVESGGG LVQPGRSLRL SCTASGFSLN DYWMSWVRQA PGKGLEWVGY IDVGGSLYYA ASVKGRFTIS RDDSKEIAYL QMNSLKTEDT AVYYCARGGL TYGFDLWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC DKHTCPCPCP APEFEGGSPV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVAVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTFPVLDL DGSFFLYSRL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNYHTQKS LSLSPGK (서열 번호:157)
VL_CD137-009-L2 카파-C	DIVMTQSPSS LSASVGRDRTV ITCQASEDIS SYLAWYQQKP GKAPKRLIYG ASDLASGVPS RFSASGSGTD YFTFTISLQP EDIATYYCHY YATISGLGVA FGGGTKVEIK RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC (서열 번호:158)
VH-PD-L1-547 IgG1- FEAL-Fc	EVQLLEPGGG LVQPGGSLRL SCEASGSTFS TYAMSWVRQA PGKGLEWVSG FSGSGGFTFY ADSVRGRFTI SRDSSKNTLF LQMSSSLRAED TAVYYCAIPA RGYNYGSGFQH WGQGTTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSSSLGTQ TYICNVNHKP SNTKVDKRVK PKSCDKHTC PCPAPAFEG GPSVFLFPPK PKDTLMISRT PEVTCVVAVV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFPYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTTP VLDSGDSFLL YSKLTVDKSR WQQGNVFCSS VMHEALHNYH TQKSLSLSPGK (서열 번호:159)
VL-PD-L1-547 람다-C	SYVLTQPPSV SVAPGQTARI TCGGNNIGSK SVHWYQQKPG QAPVLLVYDD NDRPSGLPER FSGSNGNTA TLTISRVEAG DEADYYCQVW DSSSDHVVFG GGTKLTVLQG PKAAPSVTLF PPSSEELQAN KATLVCLISD FYPGAVTVAW KADSSPVKAG VETTTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS (서열 번호:160)

[1155]

실시예 9

[1156]

추가적인 CD137 x TA 결합 분자의 특성확인

[1157]

[1158] CD137 MAB-6(1.1)의 VH 및 VL 도메인 및 hHER2 MAB-1(1.3)의 VH 및 VL 도메인을 포함하는, CD137 및 대표적인 TA, HER2에 결합할 수 있는 **CD137 x TA 결합 분자**를 생성하였다. 이 연구에서 많은 추가적인 이중특이적 구성을 조사하였다. 특히, 이중특이적 디아바디 도메인을 포함하며 **도 1D**에 도시된 비대칭 구조를 가지는, "**DART-B1**"로 표시된 2가 이중특이적 디아바디, 및 이중특이적 디아바디형 결합 도메인 (부위 A는 CD137에 결합하고, 부위 B는 TA에 결합함), 및 비-디아바디형 결합 도메인 (부위 C는 CD137에 결합함)을 포함하며 **도 3A**에 도시된 구조를 가지는, "**TRIDENT-B2**"로 표시된 3가 결합 분자를 생성하였다. 더불어, 이전에 특성화된 것과 동일한 일반 구성을 가진 분자를 생성하였다. 특히, 동일한 이중특이적 디아바디 결합 도메인을 포함하며 **도 1B**에 도시된 항체 유사 Y자형 구조를 가진, "**DART-B2**"로 표시된 4가 이중특이적 디아바디, 및 단일특이적 디아바디형 결합 도메인 (부위 A 및 B는 CD137에 결합함), 및 비-디아바디형 결합 도메인 (부위 C는 TA에 결합함)을 포함하는, "**TRIDENT-B1**"로 표시된 3가 결합 분자를 생성하였다. 이들 분자, 및 동일한 구조를 가진 특정 이중특이적 대조군 및 비교기 분자의 도메인 속성은 상기에서 논의된다 (예컨대, **표 5-6** 참조).

[1159]

DART-B1, DART-B2, TRIDENT-B1, TRIDENT-B2, 모 CD137 MAB-6 (1.1) 및 HER2 MAB-1(1.3) 항체, 및 음성 대조군: DART-4, DART-5, TRIDENT-3, 및 TRIDENT-4 (각각의 테스트 물품과 비슷한 구조를 가지는 CD137 x RSV 결합 분자)의 기능적 활성을 HER2 발현 세포 (웰당 20,000개 세포의 JIMT-1 (HER2⁺⁺) 또는 N87 (HER2⁺⁺⁺))의 존재 및 부재 하에 본질적으로 위에서 기술된 것과 같이 수행된 CD137 리포터 검정으로 평가하였다. 테스트 물품을 1 ug/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였다. JIMT-1 및 N87 세포를 사용하는 대표적인 검정의 결과를 각각 **도 22A** 및 **22B**에 도시하며, 결합 도메인 **CD137 MAB-6 (1.1)**을 포함하는 모든 **CD137 x HER2** 이중특이적 분자는 표적 의존성 신호 변환을 매개한 한편 모 항체 및 음성 대조군은 활성을 나타내지 않았음을 입증한다.

[1160]

DART-B1, DART-B2, TRIDENT-B1, TRIDENT-B2, 모 CD137 MAB-6 (1.1) 및 HER2 MAB-1(1.3) 항체, 및 음성 대조군: DART-4, DART-5, TRIDENT-3, 및 TRIDENT-4의 기능적 활성을 또한 HER2 발현 세포 (웰당 JIMT-1 및 N87 10,000개 세포)의 존재 하에 본질적으로 위에서 기술된 것과 같이 수행된 일차 T 세포 사이토카인 방출 검정으로

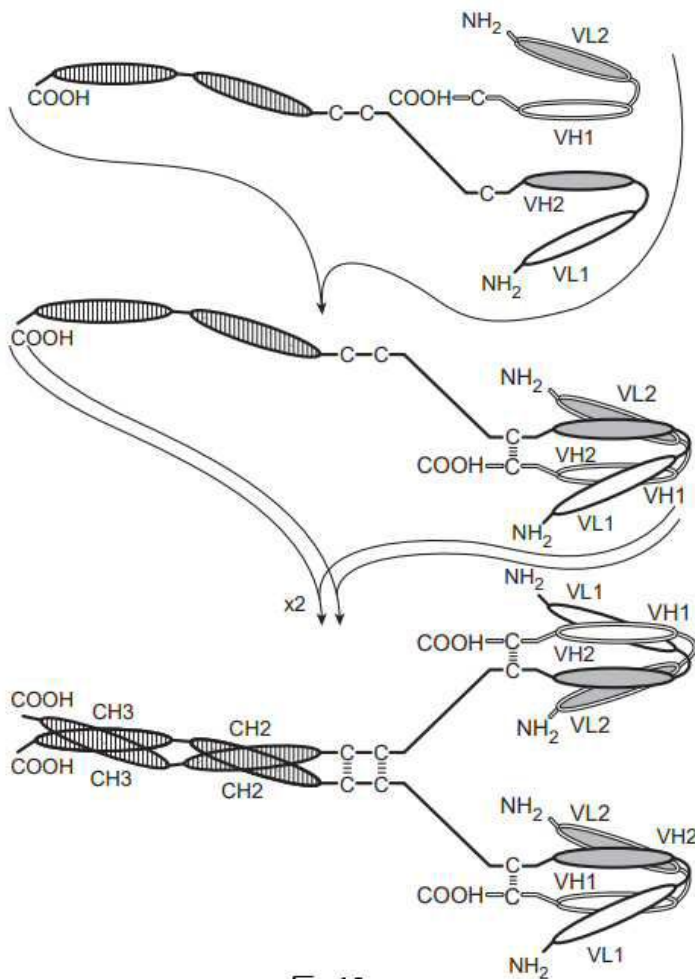
로 평가하였다. 테스트 물품을 1 µg/mL 및 5배 연속 희석으로 사용하였다. JIMT-1 세포를 사용하는 대표적인 검정의 결과를 도 23A (INF-γ) 및 23C (IL-2)에 도시하고, N87 세포를 사용하는 대표적인 검정의 결과를 도 23B (INF-γ) 및 23D (IL-2)에 도시한다. CD137 리포터 검정에서 알 수 있는 것과 같이, 결합 도메인 **CD137 MAB-6 (1.1)**을 포함하는 모든 **CD137 x HER2** 이중특이적 분자는, 특히 높은 HER2 발현 N87 세포와 함께, 표적 의존성 사이토카인 방출을 매개한 한편, 모 항체 및 음성 대조군은 활성을 나타내지 않았다.

[1161] 이들 연구는 결합 도메인 **CD137 MAB-6 (1.1)**을 포함하는 2가, 4가, 및 3가 **CD137 x TA** 이중특이적 분자 (각각 **DART-B1**, **DART-B2**, **TRIDENT-B1/B2**)가 표적 의존성 신호 변환을 매개했음을 입증한다. CD137 결합 도메인의 위치는 TRIDENT-B1에 비해 TRIDENT-B2 에서 이동된 것이 주지될 것이다. 이 연구는 **CD137 MAB-6**이 추가적인 종양 항원과 쌍을 형성할 때, 수많은 구성에서, 및 심지어 단일 결합 부위에 존재할 때에도 기능적인 것을 입증한다.

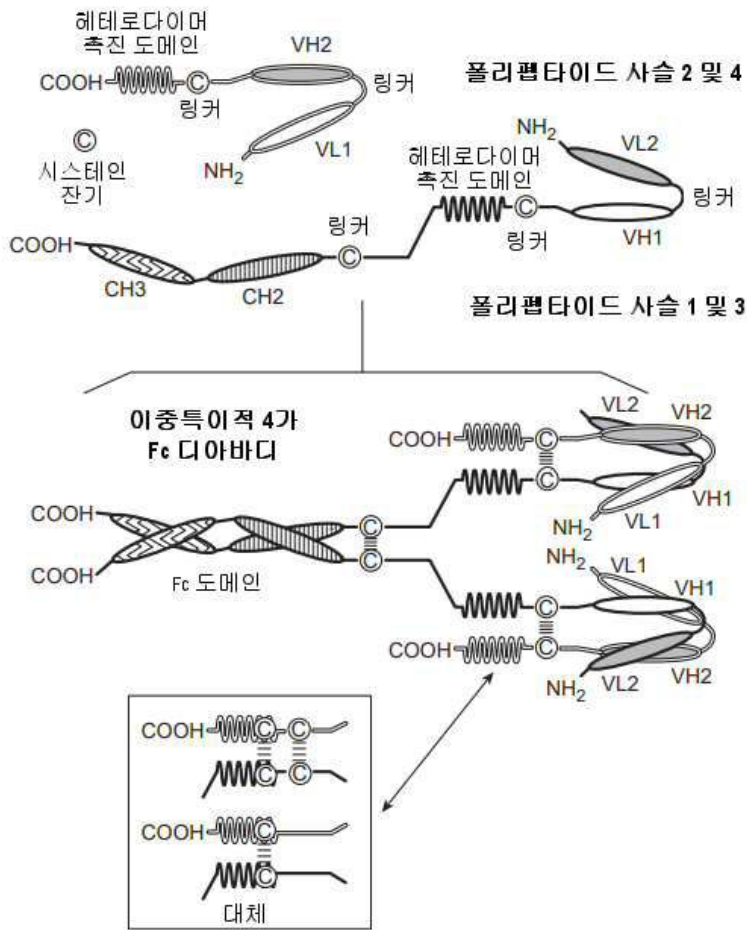
[1162] 본 명세서에서 언급된 모든 간행물 및 특허는 각각의 별개의 간행물 또는 특허 출원이 그 전문이 참조로 포함되는 것으로 구체적이고 개별적으로 표시된 것처럼 동일한 정도로 참조로 본원에 포함된다. 본 발명이 특정 구체예와 관련하여 기술되었지만, 추가의 변형이 이루어질 수 있고 본 출원은 일반적으로 발명의 원리를 따르며 본 개시로부터의 그러한 일탈을 포함하는 발명의 임의의 변화, 용도, 또는 적용을 본 발명이 속하는 기술분야에 내에서 알려지거나 관례적인 실행 범주 내에 있고 지금까지 제시된 본질적인 특징에 적용될 수 있는 것으로서 포함하는 것으로 의도되는 것이 이해될 것이다.

도면

도면 1a

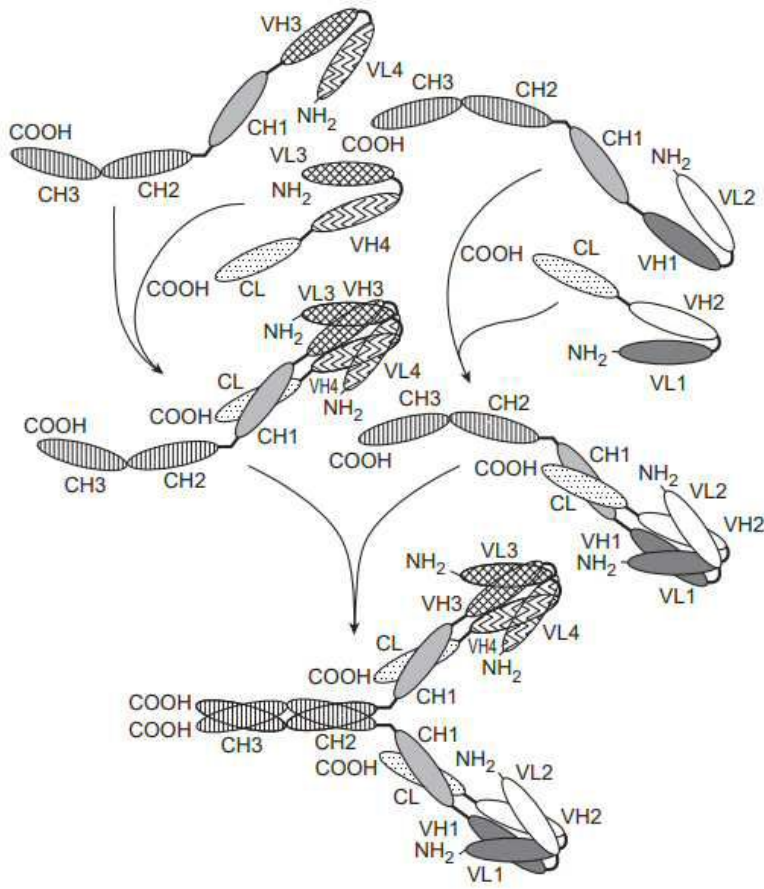


도면1b



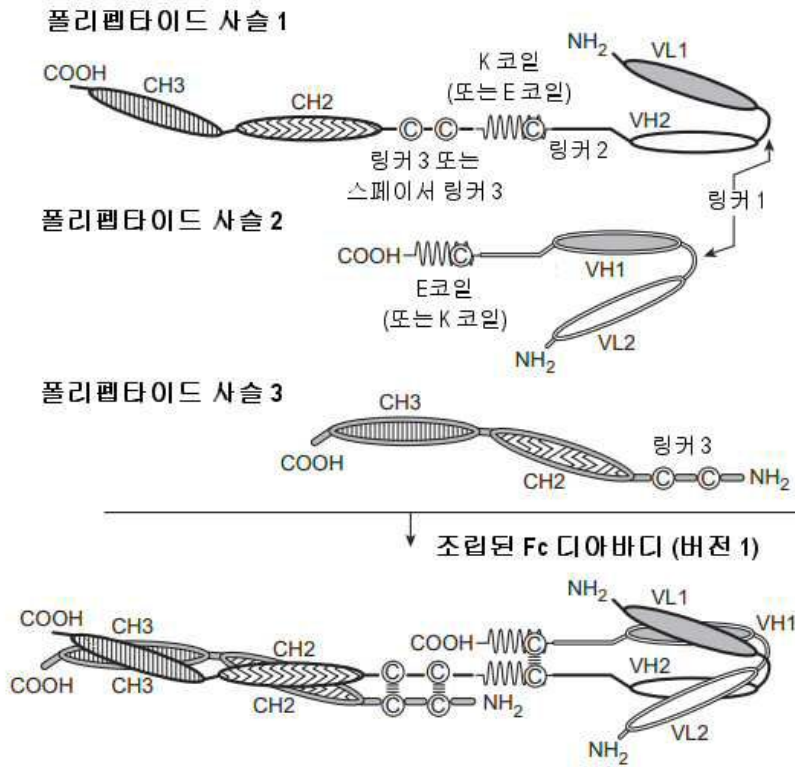
도 1B

도면1c



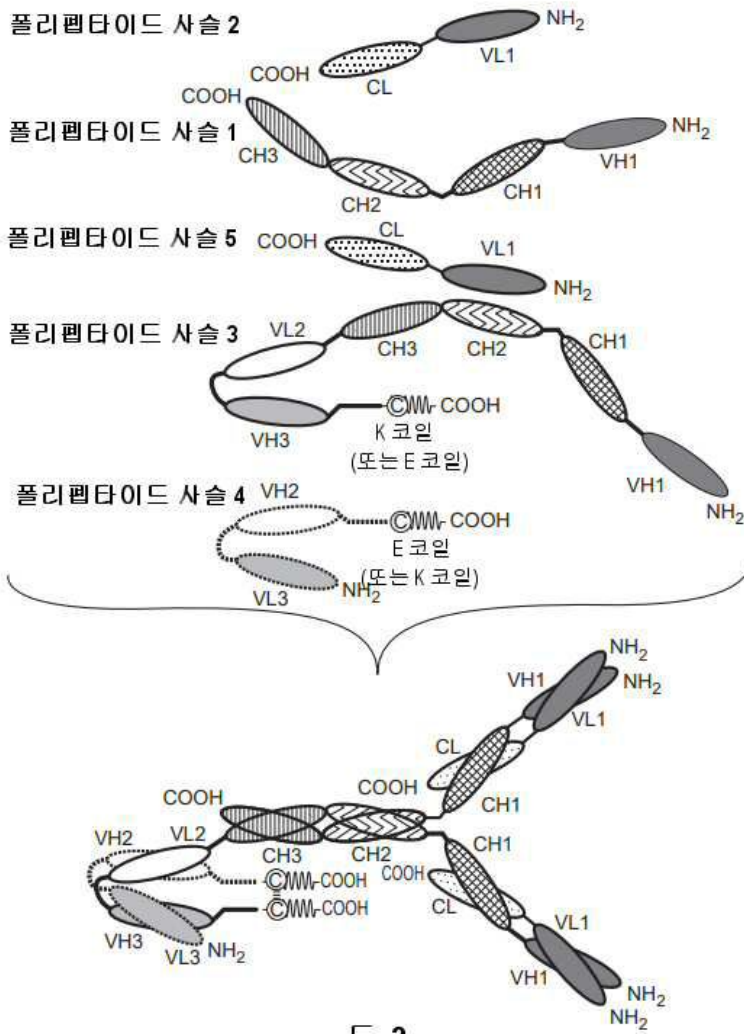
도 1C

도면1d

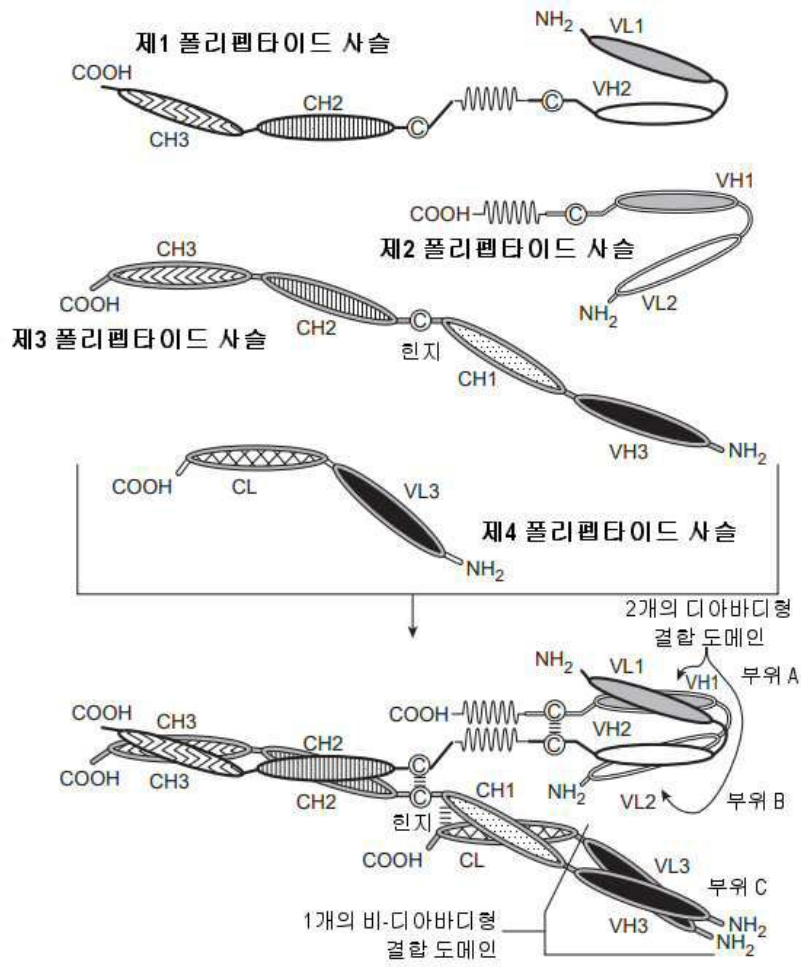


도 1D

도면2

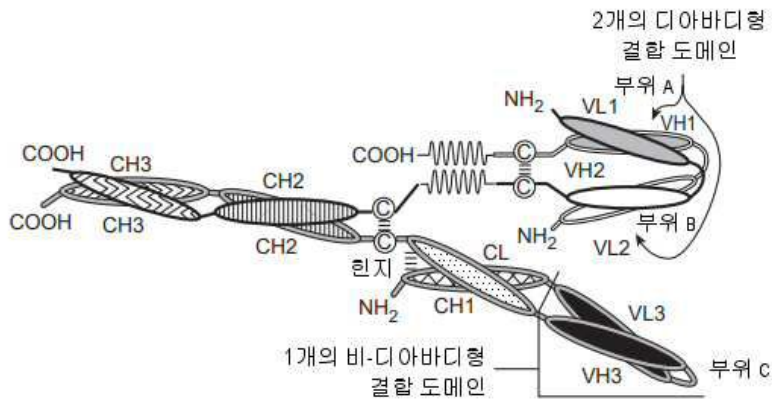


도면3a

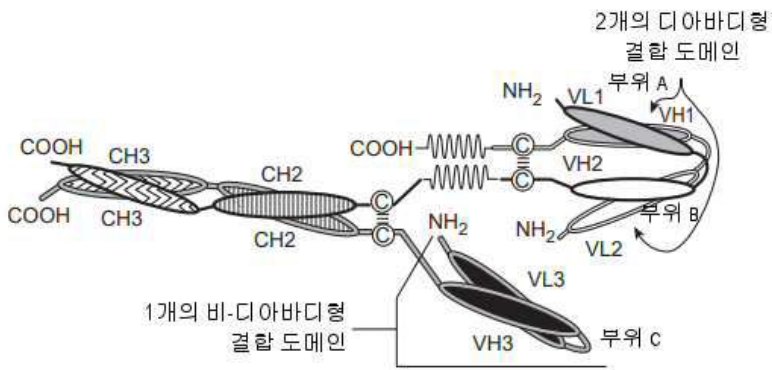


도 3A

도면3bc

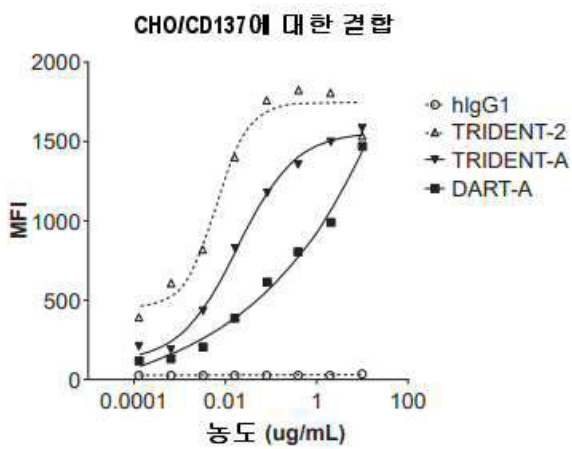


도 3B



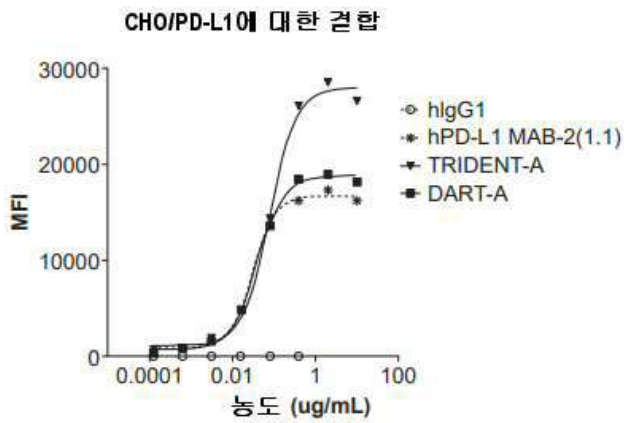
도 3C

도면4



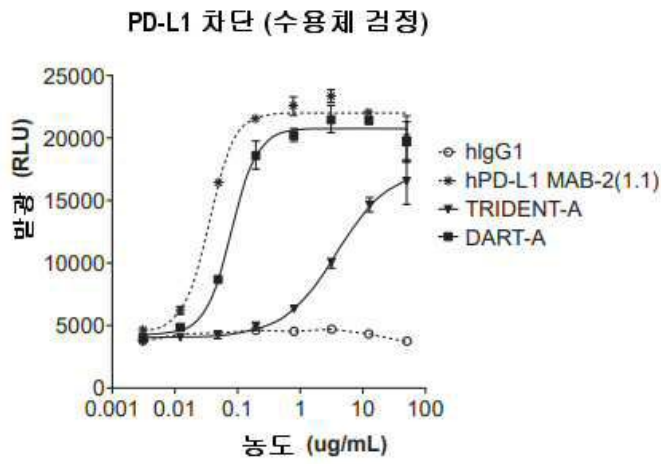
도 4

도면5a



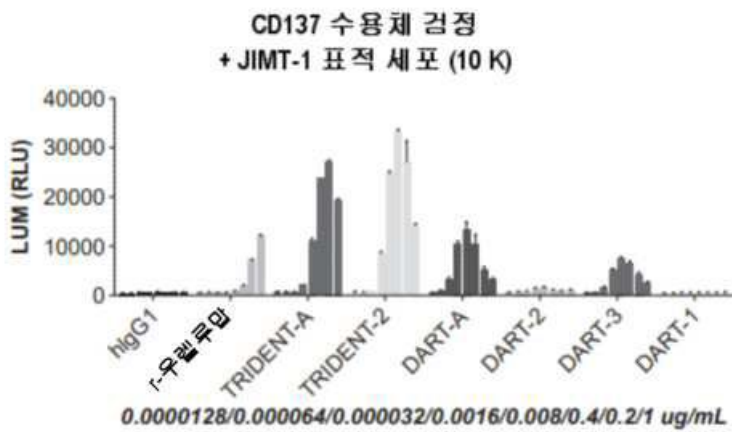
도 5A

도면5b



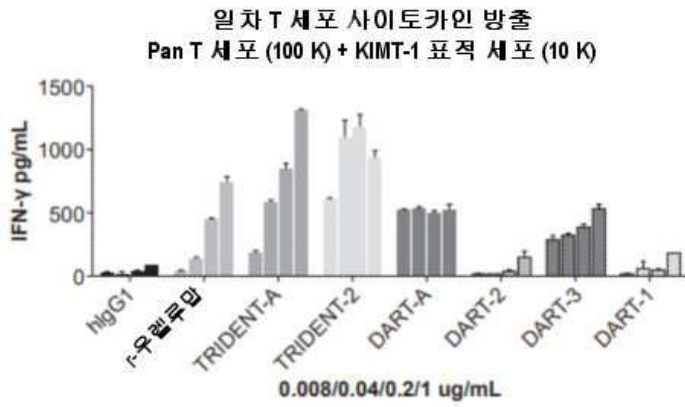
도 5B

도면6

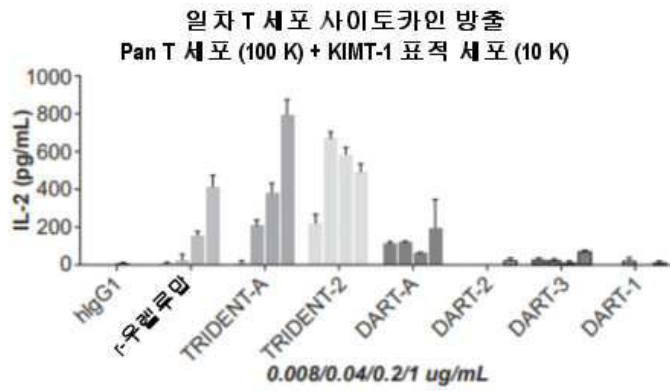


도 6

도면7ab

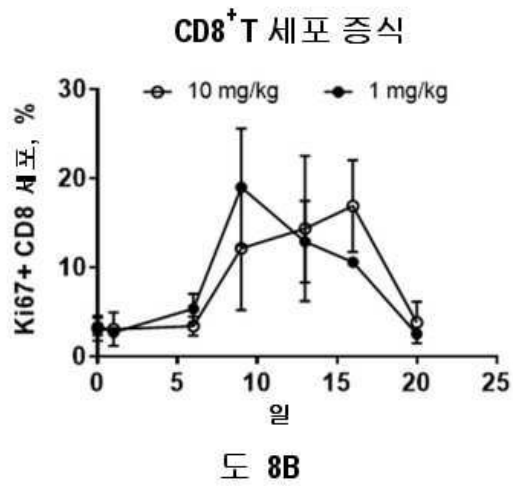
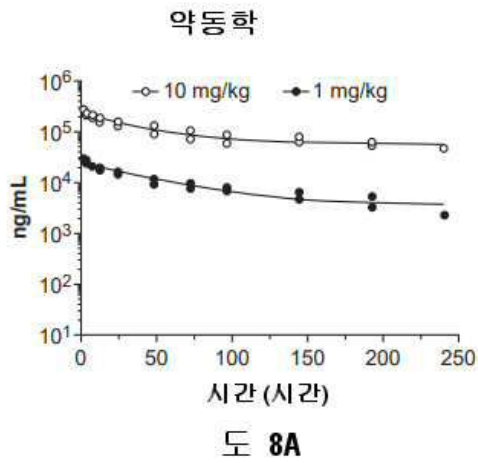


도 7A

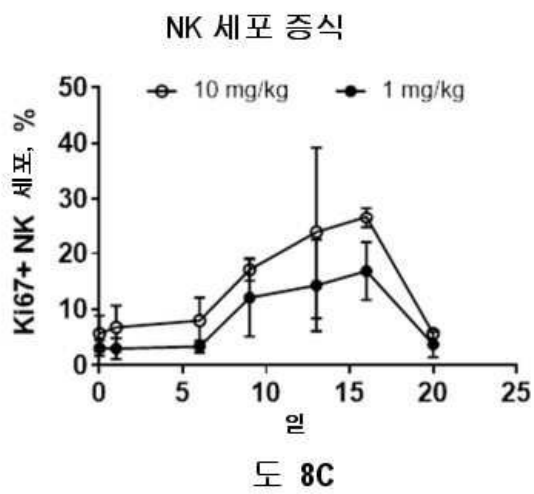


도 7B

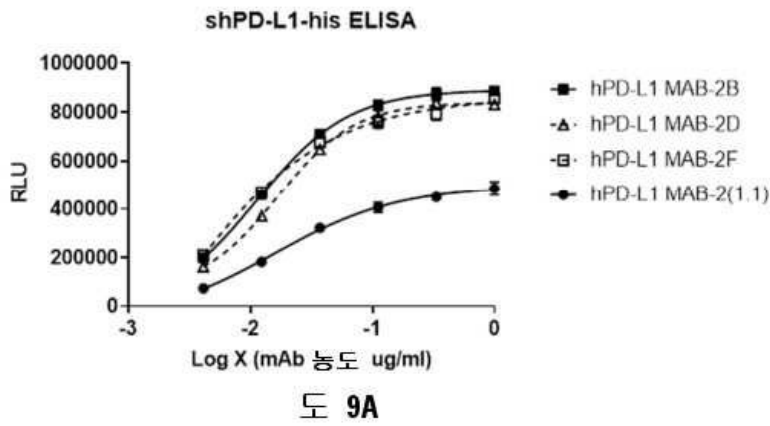
도면8ab



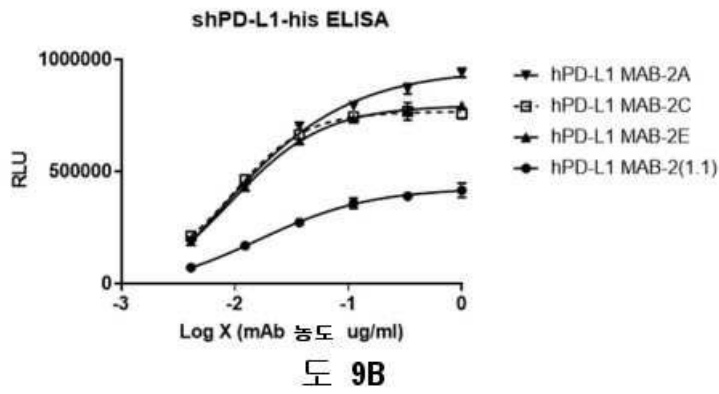
도면8c



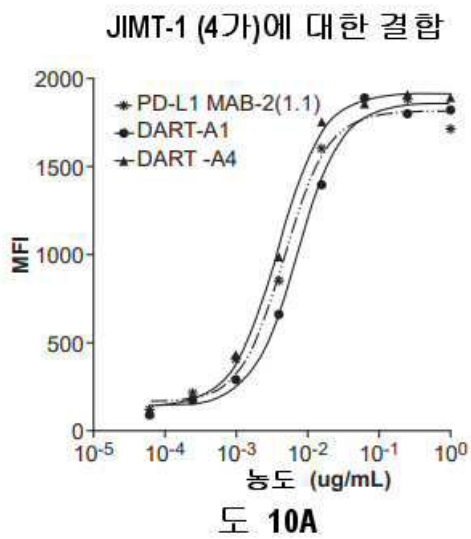
도면9a



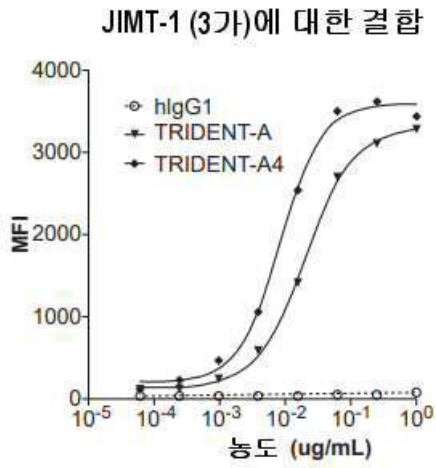
도면9b



도면10a

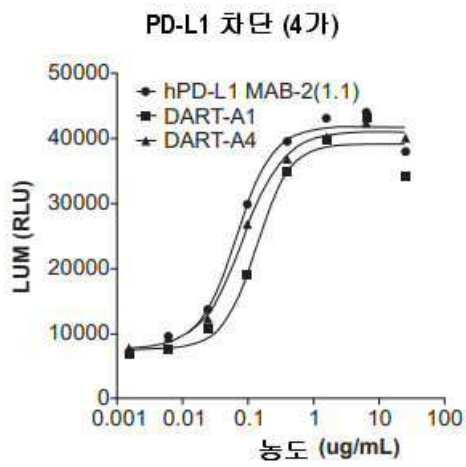


도면10b



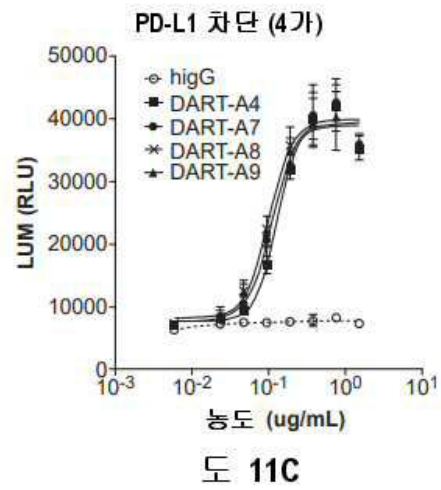
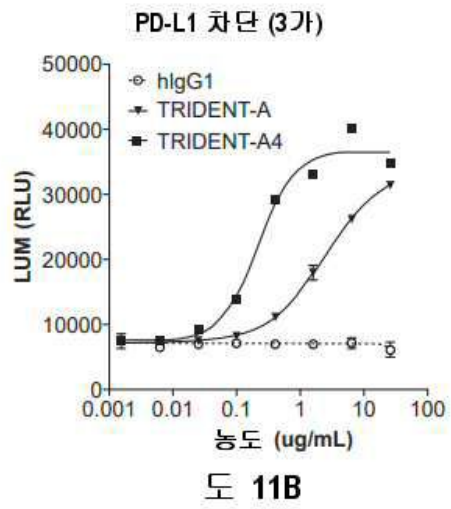
도 10B

도면11a

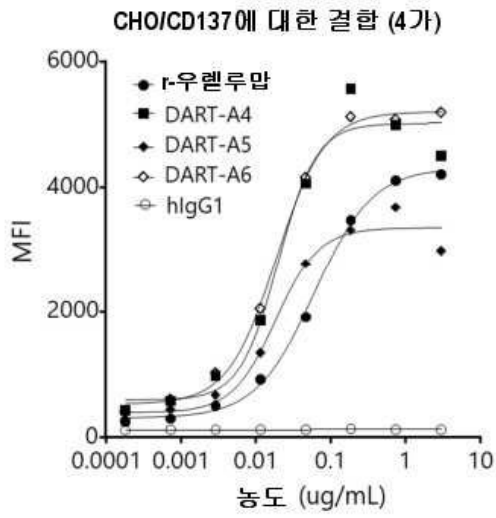


도 11A

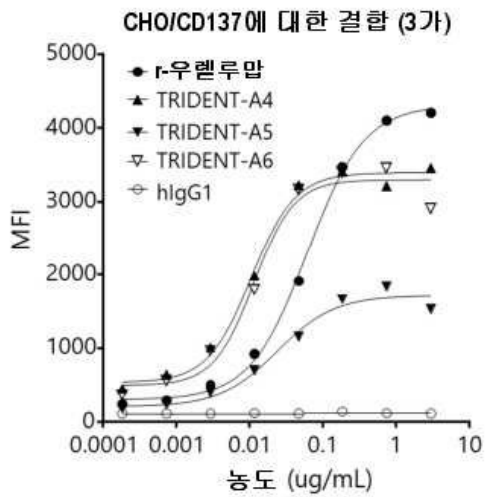
도면11bc



도면12ab

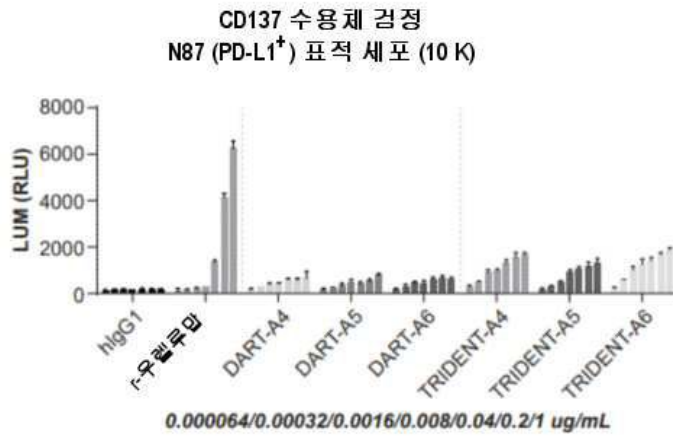


도 12A

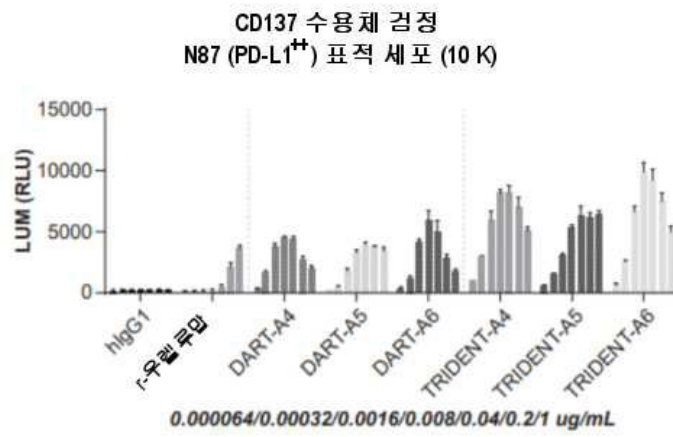


도 12B

도면13ab

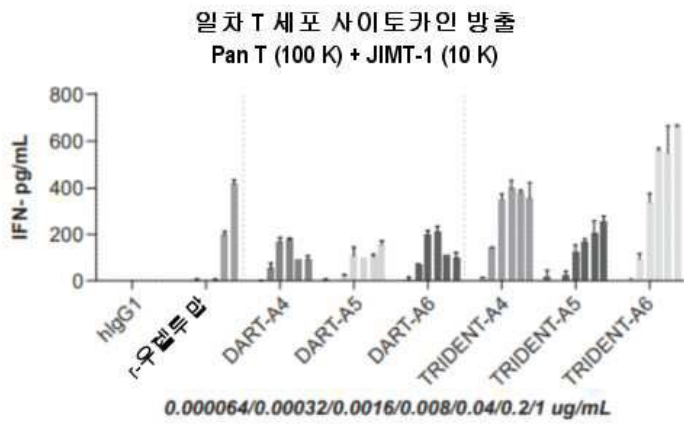


도 13A

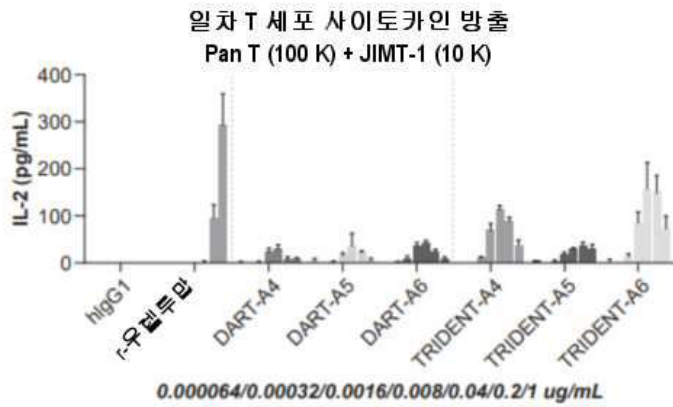


도 13B

도면14ab



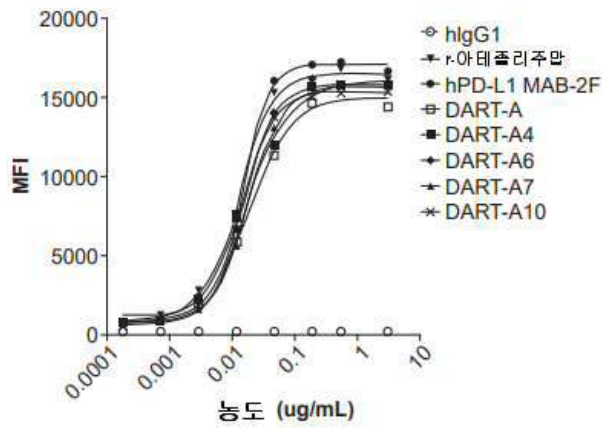
도 14A



도 14B

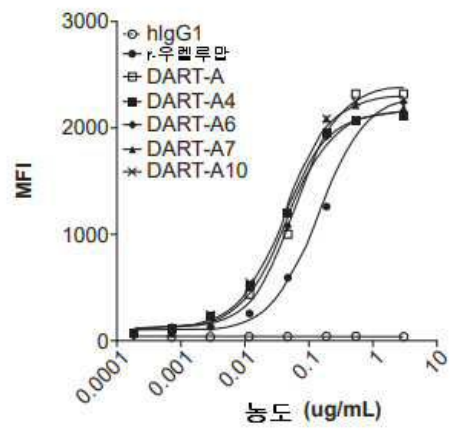
도면15ab

CHO/CD137에 대한 결합 (4가)



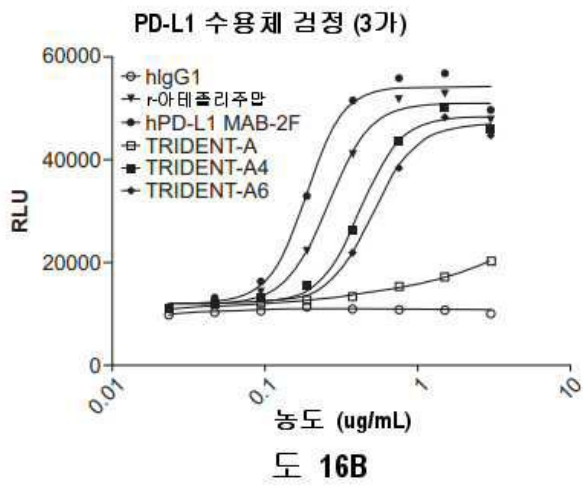
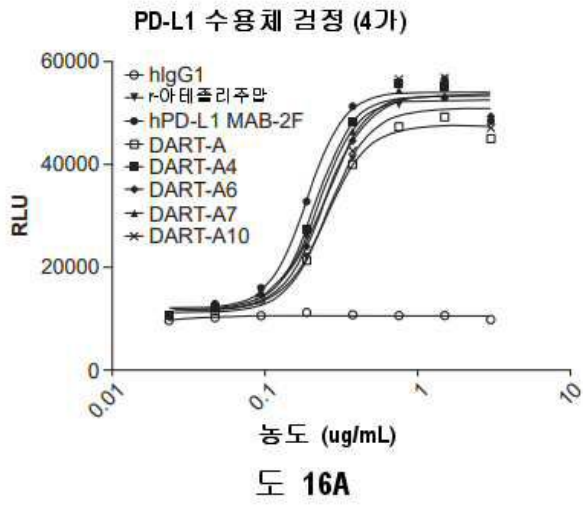
도 15A

CHO/CD137에 대한 결합 (4가)

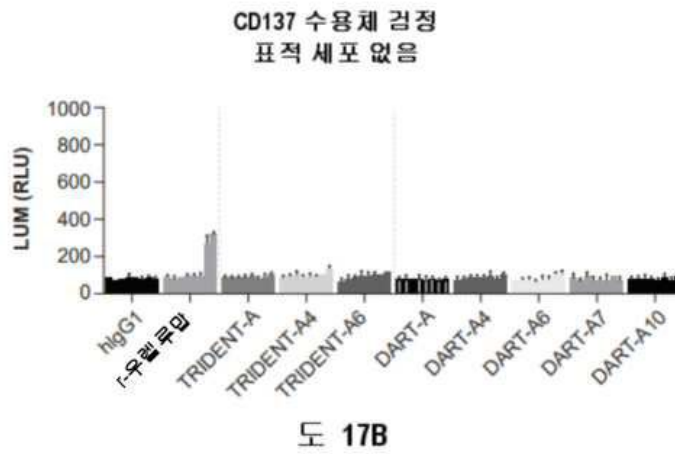
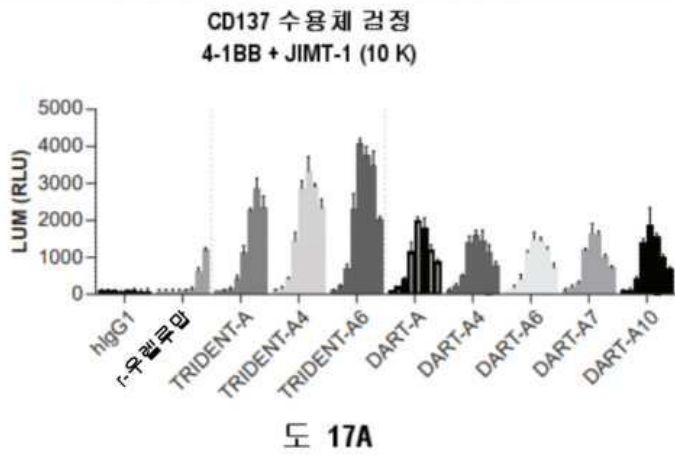


도 15B

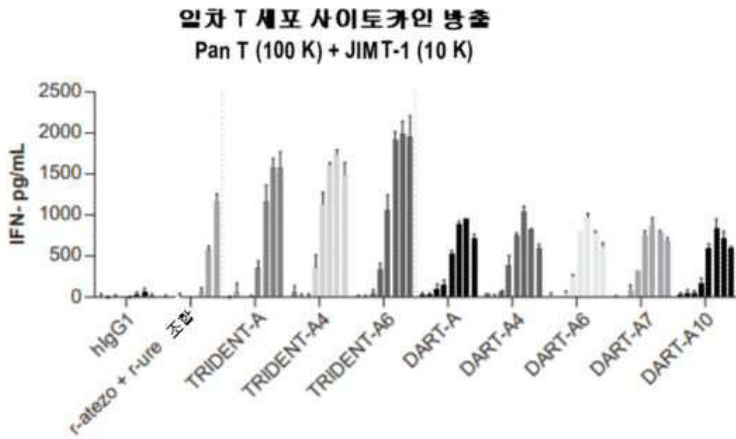
도면16ab



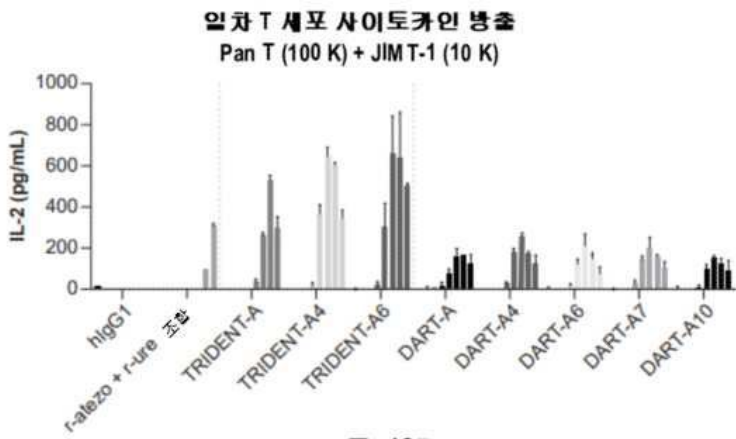
도면17ab



도면 18ab

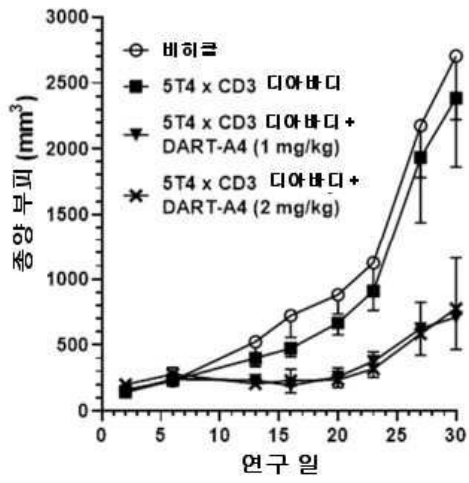


도 18A

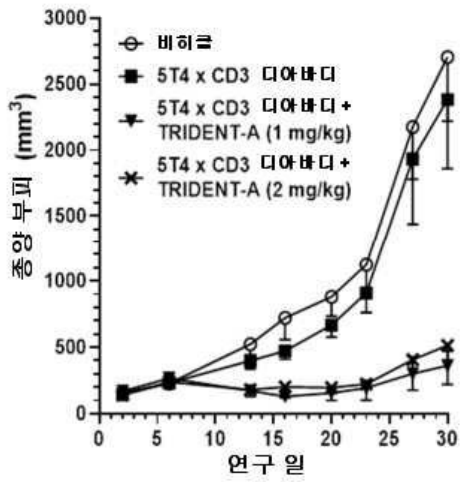


도 18B

도면 19ab

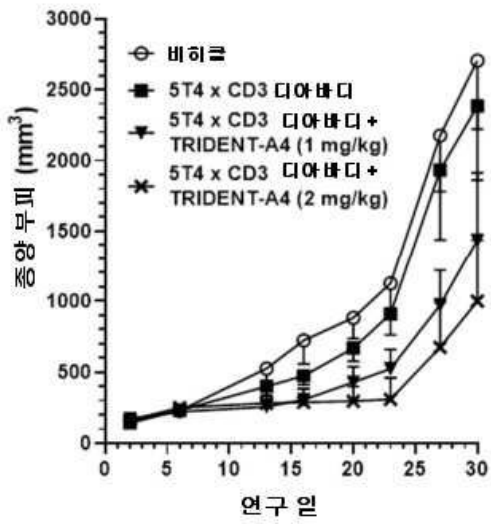


도 19A



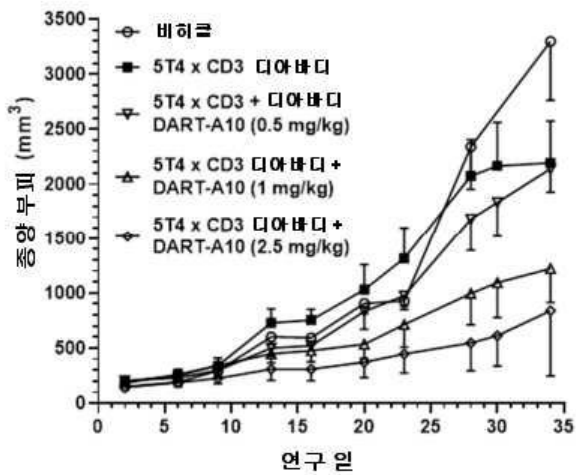
도 19B

도면19c



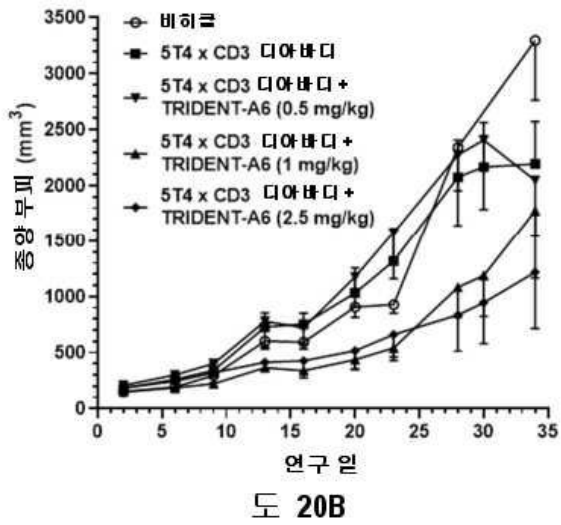
도 19C

도면20a

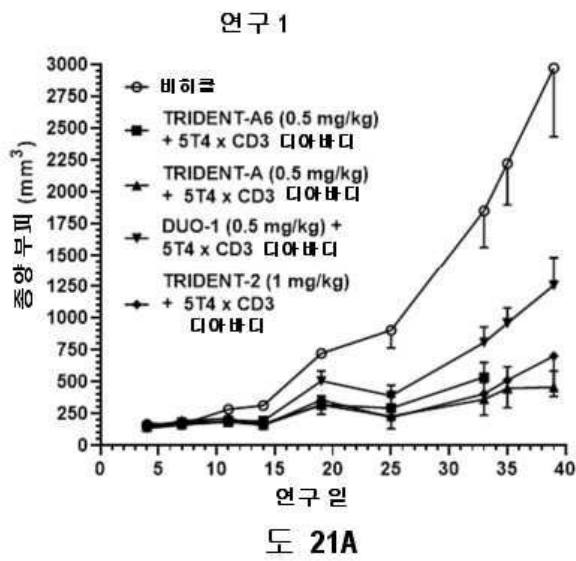


도 20A

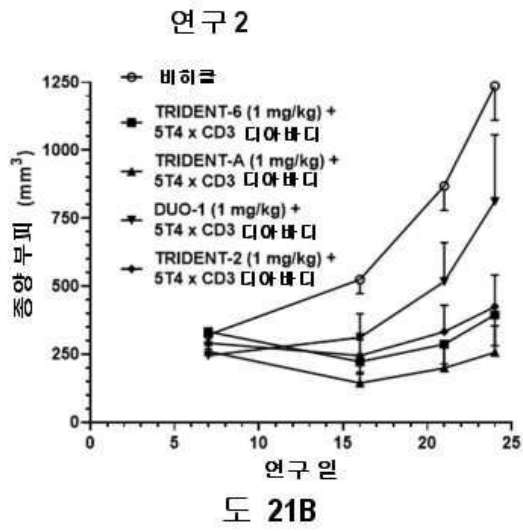
도면20b



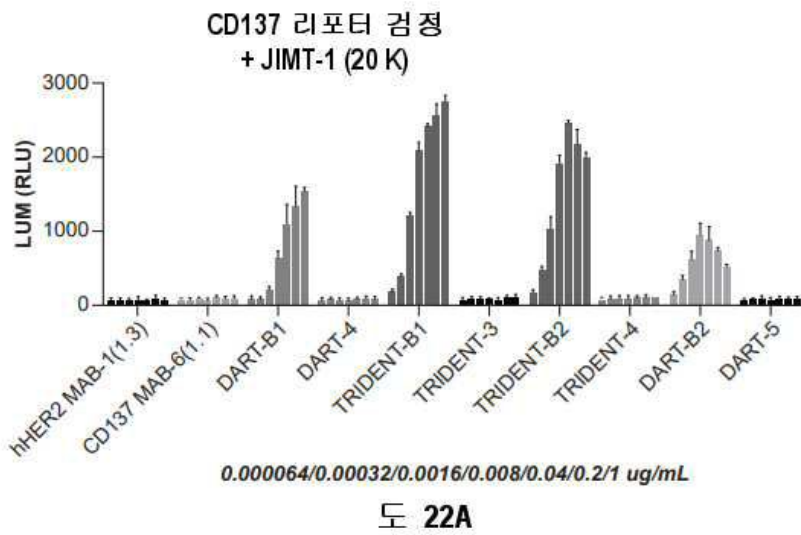
도면21a



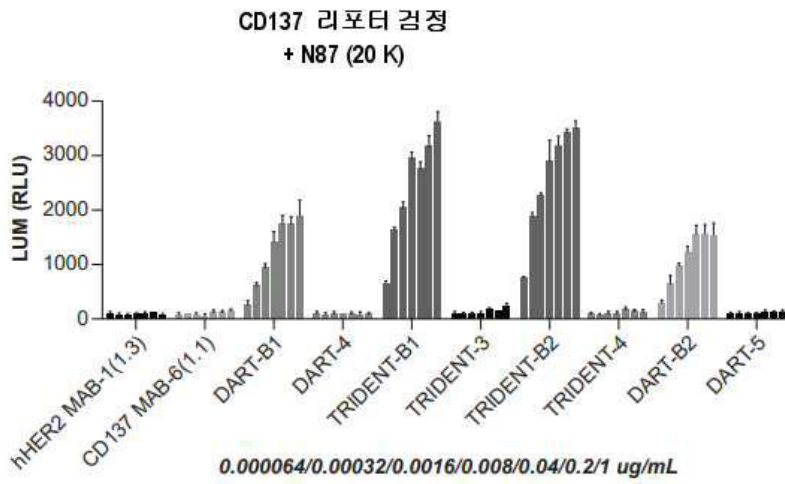
도면21b



도면22a

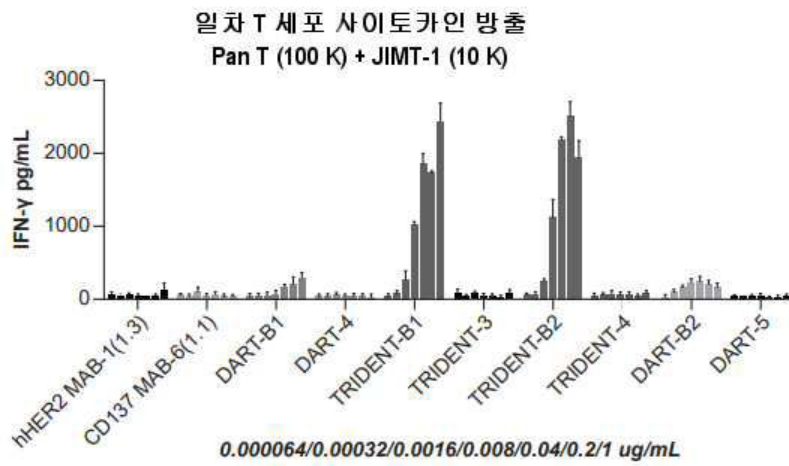


도면22b



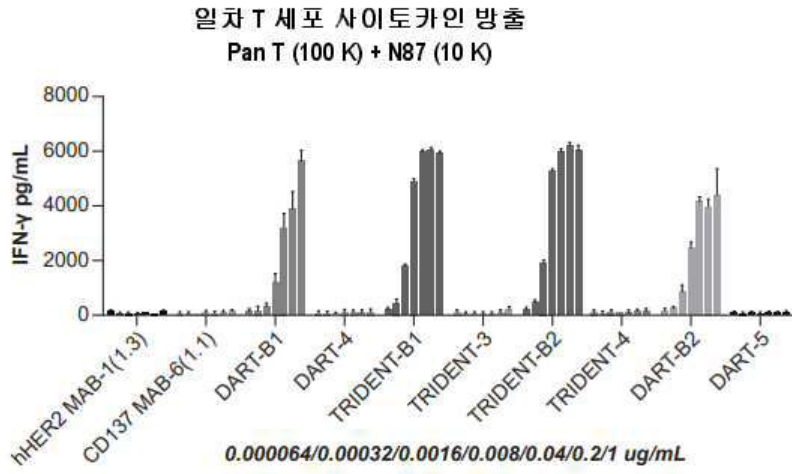
도 22B

도면23a

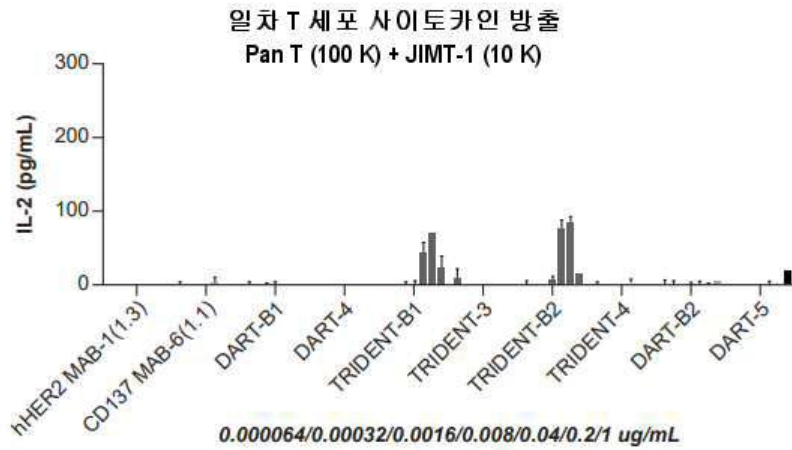


도 23A

도면23bc

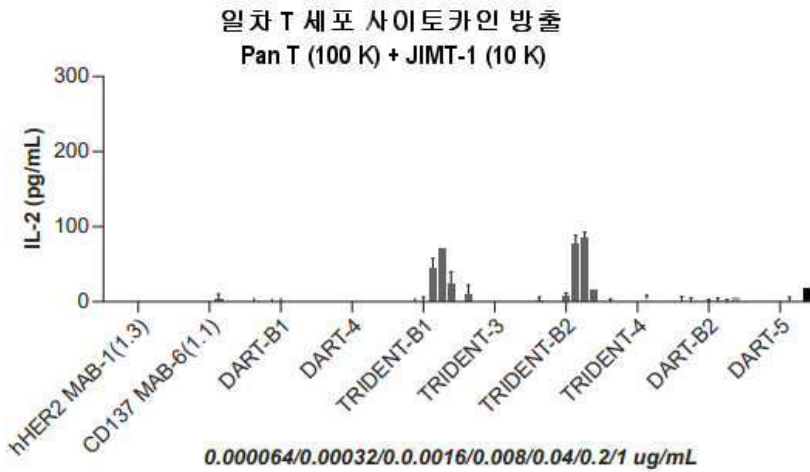


도 23B



도 23C

도면23d



도 23D

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> MACROGENICS, INC.

<120> CD137 BINDING MOLECULES AND USES THEREOF

<130> MAC-0111-PC

<140><141><150> 63/147,565

<151> 2021-02-09

<150> 63/104,685

<151> 2020-10-23

<150> 62/980,000

<151> 2020-02-21

<160> 160

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 2
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 1 5 10 15
 Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
 20 25 30
 Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
 35 40 45
 Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 50 55 60
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 65 70 75 80
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 85 90 95
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 100

<210> 3
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 3
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val

<210> 4

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val

<210> 5

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val

<210> 6

<211> 98

<212>

PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10 15

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 8

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
 1 5 10

<210> 9

<211> 62

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
 1 5 10 15
 Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
 20 25 30
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu

 35 40 45
 Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
 50 55 60

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
 1 5 10

<210> 11

<211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<400> 11
 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 12
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MOD_RES
 <222> (217)..(217)
 <223> Lysine (K) or is absent
 <400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215

<210> 13
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MOD_RES
 <222> (216)..(216)
 <223>
 Lysine (K) or is absent

<400> 13

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
 65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
 85 90 95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
 100 105 110
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
 115 120 125

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

 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 195 200 205
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215
 <210> 14
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><221> MOD_RES
 <222> (217)..(217)
 <223> Lysine (K) or is absent
 <400> 14
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

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

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
 115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
 210 215

<210> 16

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

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

<400> 17

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

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 19

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 19

Ala Ser Thr Lys Gly
1 5

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 22

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 22

Ala Pro Ser Ser Ser

1 5

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 23

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu

1 5

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 25

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 25

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

1 5 10

<210> 26

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 26

Leu Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 27

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 27

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 28

Leu Glu Pro Lys Ser Ser

1 5

<210> 29

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 29

Val Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 30

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 30

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

1 5 10 15

<210> 31

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 31

Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 32

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

Gly Val Glu Pro Lys Ser Cys

1 5

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

Val Glu Pro Lys Ser Cys

1 5

<210> 34

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

Ala Glu Pro Lys Ser Cys

1 5

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400

> 35

Gly Phe Asn Arg Gly Glu Cys

1 5

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 36

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

1 5

<210> 37

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 37

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val

1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys

20 25

<210> 38

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 38

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val

1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

20 25

<210> 39

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 39

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15
Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 40

<211> 28

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 40

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15
Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 41

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 41

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215

<210> 42

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 42

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

 50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

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

 165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

 180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

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

 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

 210 215

<210> 44

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 44

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met

115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

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

165 170 175
 Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val

180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa

210 215
 <210> 45

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 45

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

1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

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

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

195 200 205
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

210 215

<210> 46
<211> 123
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 46

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 52

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr

1 5

<210> 53

<211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 53
 Gln Gln Asp Tyr Asp Leu Pro Trp Thr
 1 5
 <210> 54
 <211> 108
 <212>
 > PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <220><221> MOD_RES
 <222> (14)..(14)
 <223> Serine (S) or Threonine (T)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (37)..(37)
 <223> Phenylalanine (F) or Tyrosine (Y)
 <220><221> MOD_RES
 <222> (40)..(40)
 <223> Isoleucine (I) or Lysine (K)
 <400> 54
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Xaa Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Leu Ser Trp Xaa Gln Gln Xaa Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
 65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 55

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 56

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 56

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

<210> 57

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 57

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

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 58

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 59

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (54)..(54)

<223> Glycine (G) or Lysine (K)

<220><221> MOD_RES

<222> (78)..(78)

<223> Threonine (T) or Serine (S)

<220><221> MOD_RES

<222> (87)..(87)

<223> Lysine (K) or Arginine (R)

<220><221> MOD_RES

<222> (88)..(88)

<223> Alanine (A) or Threonine (T)

<220><221> MOD_RES

<222> (99)..(99)

<223> Alanine (A) or Glutamine (Q)

<220><221> MOD_RES

<222> (105)..(105)

<223> Phenylalanine (F) or Glycine (G)

<400> 59

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ile Xaa Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Xaa Gly Leu Pro Tyr Tyr Xaa Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 60

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 60

Ser Tyr Thr Met Ser

1 5

<210> 61

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<220><221> MOD_RES

<222> (5)..(5)

<223> Glycine (G) or Lysine (K)

<400> 61

Tyr Ile Ser Ile Xaa Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 62

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> Alanine (A) or Glutamine (Q)

<220><221> MOD_RES

<222> (7)..(7)

<223> Phenylalanine (F) or Glycine (G)

<400> 62

Xaa Gly Leu Pro Tyr Tyr Xaa Asp Tyr

1 5

<210> 63

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> Glutamate (E) or Threonine (T)

<400> 63

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Xaa Ala

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 64
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <220><221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Glutamate (E) or Threonine (T)
 <400> 64
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Xaa Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 65
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 65
 Trp Ala Ser Thr Arg His Thr
 1 5

<210> 66
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 66
 Gln Gln His Tyr Asn Thr Pro Leu Thr
 1 5

<210> 67
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 67

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

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

<210> 68

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 68

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

Ala Tyr Ile Ser Ile Lys Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 69

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 70

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 70

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

35

40

45

Ala Tyr Ile Ser Ile Lys Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 71

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 71

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

1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Arg Ala Gly Leu Pro Tyr Tyr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 72
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 72
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Glu Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 73

Tyr Ile Ser Ile Lys Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 74

Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Gly Asp Tyr

1 5

<210> 75

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 75

Ala Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<400> 76
 Ala Gly Leu Pro Tyr Tyr Gly Asp Tyr
 1 5

<210> 77
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<400> 77
 Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Glu Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 78
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<220><221> MOD_RES
 <222> (100)..(100)

<223> Apartate (D) or Glutamate (E)

<220><221> MOD_RES
 <222> (101)..(101)

<223> Gycine (G) or Isoleucine (I)

<400> 78
 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 Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Glu Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Xaa Xaa Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MOD_RES

<222> (30)..(30)

<223> Asparagine (N) or Serine (S)

<220><221> MOD_RES

<222> (31)..(31)

<223> Serine (S) or Threonine (T) or Asparagine (N)

<220><221> MOD_RES

<222> (55)..(55)

<223> Valine (V) or Glutamine (Q)

<220><221> MOD_RES

<222> (56)..(56)

<223> Aspartate (D) or Glutamate (E) or Serine (S)

<400> 79

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Xaa Xaa Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Xaa Xaa 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 Leu Gln His Asp Glu Phe Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 80

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 80

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

 65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 81

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 81

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 Asn Tyr
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Glu Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Asp Glu Gly Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 82

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 82

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 Asn Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Glu Phe

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Ala Arg Asp Asp Ile Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly

 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

 115

<210> 83

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 83

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr

 20 25 30

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

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 85

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Leu Gln His Asp Glu Phe Pro Trp

 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105

<210> 86

<211> 118

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 86

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

1 5 10 15

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Met Ile Trp Gly Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys

<400> 88

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
 35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

Thr Leu Thr Val Ser Ser
 115

<210> 89

<211> 111

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 89

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
 20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

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

1 5 10 15
 Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Thr Thr Ala

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

 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

 100 105
 <210> 92
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<400> 92
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Phe
 20 25 30

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

85 90 95

Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 93

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 94

<211> 127

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 94

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Asn Cys
 85 90 95
 Ala Arg Tyr Gly Pro Leu Phe Thr Thr Val Val Asp Pro Asn Ser Tyr

 100 105 110
 Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 95

<211> 112

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 95

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

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

85 90 95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 96

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 97

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 97

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

<210> 98

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 98

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

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

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

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

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

<210> 99

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 99

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

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

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

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

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

<210> 100

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct
 <400> 100
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

 Ala Arg His Asp Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 101

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct
 <400> 101
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
 35 40 45
 Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Pro Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Pro

85 90 95
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 102

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 102

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 Ser

20 25 30
 Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Glu Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
 50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Ala Arg Ile Tyr Gly Asn Asn Val Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 103

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 103

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Ile Ser Phe Met
 20 25 30

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

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
 85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 104

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 104

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Arg Pro Gly Val
 1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

 20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Tyr Ser Gly Ser Arg Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 105

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 105

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
 20 25 30

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

Trp Gly Ala Ser Asn Leu Ala Asp Gly Met Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

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

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

<210> 106

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 106

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Ser Ser Gly Phe Ala Leu Thr Asp Tyr

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

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

<210> 107

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 107

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

Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Ile

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

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

<210> 108

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 108

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

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

85 90 95
 Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 109

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 109

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

1 5 10 15

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

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

35 40 45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 110

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 110

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 111

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 111

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

construct

<400> 113

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 100 105

<210> 114

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (37)..(37)

<223> Valine (V) or Isoleucine (I)

<400>

> 114

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

35 40 45
 Ala Thr Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Ala
 50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asp Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Thr Arg Asp Ser Tyr Ala Asp Asp Ala Ala Leu Phe Asp Ile Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 115

<211> 112

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 115

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

Ser Val Lys Leu Thr Cys Thr Leu Ser Ser Gly His Lys Thr Asp Thr
 20 25 30

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

Lys Leu Glu Gly Ser Gly Ser Tyr Asn Lys Gly Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Asp Trp Tyr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Asp Tyr
 85 90 95

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

100 105 110

<210> 116

<211> 504

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 116

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
115 120 125

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
130 135 140

Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
165 170 175

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 500

<210> 117

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 117

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

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

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

 225 230 235 240
 Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255
 Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 118

<211> 505

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 118

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

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

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

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

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

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

 260 265 270
 Leu Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 275 280 285
 Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

290 295 300
 Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
 305 310 315 320
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

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

 385 390 395 400
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 405 410 415
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 420 425 430
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 435 440 445
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

 450 455 460
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 465 470 475 480
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 485 490 495
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500 505
 <210> 119
 <211> 268
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 119

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

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

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

 Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 195 200 205
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 120

<211> 505

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 120

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Glu Ala
 20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 115 120 125

Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 130 135 140

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

145 150 155 160
 Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro
 165 170 175
 Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln
 180 185 190
 Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr
 195 200 205
 Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Trp Tyr Asp Glu Asp Tyr Asn Tyr Tyr Gly
 210 215 220

 Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
 225 230 235 240
 Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
 245 250 255
 Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
 260 265 270
 Leu Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 275 280 285

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

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

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
 405 410 415

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 420 425 430

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 435 440 445

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 450 455 460

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 465 470 475 480

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 485 490 495

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500 505

<210> 121

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 121

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

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

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

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

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

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys

180 185 190

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

195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gly Leu Pro Tyr Tyr Gly Asp Tyr Trp

210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly

225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val

245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

260 265

<210> 122

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 122

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

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

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

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

245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

260 265

<210> 123

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 123

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

115 120 125

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

130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

145 150 155 160

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255
 Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 124

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 124

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

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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
 115 120 125

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

Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr
 165 170 175

Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys
 180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Gly Leu Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp
 210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 125

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 125

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

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

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

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

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

 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly
 225 230 235 240
 Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255
 Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 126

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 126

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser

 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

 115 120 125

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

 130 135 140

Phe Ser Ser Tyr Thr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

145 150 155 160

Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr

 165 170 175

Pro Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys

 180 185 190

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

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 127

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 127

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

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asp Leu Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser
 100 105 110

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

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

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

 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 485 490 495
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500

 <210> 128
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 128
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Thr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 129

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ile Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

 130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

 165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

 180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

 195 200 205

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

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg
 245 250 255

Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350

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

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 130

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 130

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

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

 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 131

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 131

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ile Lys Gly Gly Thr Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg
 245 250 255
 Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
 355 360 365
 Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430
 Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 132

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 132

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Glu Ala

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Trp Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly
 145 150 155 160
 Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn
 165 170 175
 Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
 180 185 190

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

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

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

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

385 390 395 400
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 405 410 415
 Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 420 425 430
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 435 440 445

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 450 455 460
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 465 470 475 480
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 485 490 495
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500

<210> 134

<211> 273

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 134

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

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

<210> 135

<211> 503

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 135

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

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

 210 215 220
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 225 230 235 240

Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
 245 250 255
 Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
 260 265 270
 Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 275 280 285
 Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 290 295 300
 Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 305 310 315 320
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 325 330 335
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 340 345 350
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 355 360 365
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 370 375 380
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 385 390 395 400
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 405 410 415
 Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 420 425 430
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 435 440 445
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 450 455 460
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 465 470 475 480
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
 180 185 190
 Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
 195 200 205
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Trp Tyr Asp Glu Asp Tyr Asn Tyr Tyr
 210 215 220
 Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
 225 230 235 240
 Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala
 245 250 255
 Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
 260 265 270

Glu

<210> 137

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 137

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

85 90 95
 Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 138

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 138

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

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

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

35 40 45
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

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

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

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

<210> 139

<211> 268

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 139

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

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

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

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

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
 245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
 260 265

<210> 140

<211> 504

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 140

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

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

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
 35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 115 120 125

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

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 145 150 155 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 500

<210> 141
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<400> 141

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

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

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

100 105 110
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu

115 120 125
 Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly

130 135 140
 Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

145 150 155 160
 Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr

165 170 175
 Glu Tyr Asn Glu Lys Ala Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys

180 185 190
 Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp

195 200 205
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp

210 215 220
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly

225 230 235 240
 Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

245 250 255
 Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

260 265 270
 <210> 142

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 142

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

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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Pro Gly Lys

225

<210> 143

<211> 499

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 143

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

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

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

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asp Leu Pro
 85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
 115 120 125

Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr
 130 135 140

Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
 145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr
 165 170 175

Thr Glu Glu Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile
 180 185 190

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
 195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr
 210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 485 490 495

Pro Gly Lys

<210> 144

<211> 272

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 144

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Leu Gln His Asp Glu Phe Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
 100 105 110
 Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 115 120 125
 Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile
 130 135 140
 Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu
 145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln

180 185 190

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

195 200 205

Tyr Cys Ala Arg Asp Gly Trp Tyr Asp Glu Asp Tyr Asn Tyr Tyr Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu

245 250 255

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

260 265 270

<210> 145

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 145

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 146
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <220><221> MOD_RES
 <222> (217)..(217)
 <223> Lysine (K) or is absent
 <400> 146
 Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

1 5 10 15

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

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

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

 195 200 205
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
 210 215
 <210> 147
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 147

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val

180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa

210

215

<210> 148

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 148

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

210 215

<210> 149

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 149

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa

210 215

<210> 150

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<220><221> MOD_RES

<222> (217)..(217)

<223> Lysine (K) or is absent

<400> 150

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

1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val

20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa

210 215

<210> 151

<211> 505

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 151

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Thr Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Leu Gln His Asp Glu Phe Pro Trp
 85 90 95

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

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

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

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

construct

<400> 152

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Ile Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly

145 150 155 160

Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr

165 170 175

Thr Glu Glu Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile

180 185 190

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

195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr

210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly

225 230 235 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys

245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

260 265

<210> 153

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

construct

<400> 153

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 Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Asn Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Thr Glu Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Asp Gly Tyr Gly Asn Arg Val Ser Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

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

435 440 445
 Lys

<210> 154

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 154

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

35 40 45
 Tyr Arg Ala Asn Arg 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 Leu Gln His Asp Glu Phe Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 155

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 155

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

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

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

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

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
 385 390 395 400
 Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu
 405 410 415
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
 420 425 430
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
 435 440 445

Leu Ser Pro Gly Lys
 450

<210> 156

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 156

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

65 70 75 80
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 85 90 95
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

 100 105 110
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 115 120 125
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 130
 <210> 157
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 157
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15

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

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

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

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

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

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

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

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Leu Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450
 <210> 160
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 construct
 <400> 160
 Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val
 20 25 30
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45
 Asp Asp Asn Asp Arg Pro Ser Gly Leu Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60

