



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0044218
(43) 공개일자 2021년04월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61P 21/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2021-7004249
- (22) 출원일자(국제) 2019년07월11일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2021년02월10일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/041468
- (87) 국제공개번호 WO 2020/014526
국제공개일자 2020년01월16일
- (30) 우선권주장
62/696,759 2018년07월11일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
모멘타 파머슈티컬스 인코포레이티드
미국 메사추세츠 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
- (72) 발명자
맨닝 안토니
미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
초우두리 아미트
미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
장훈

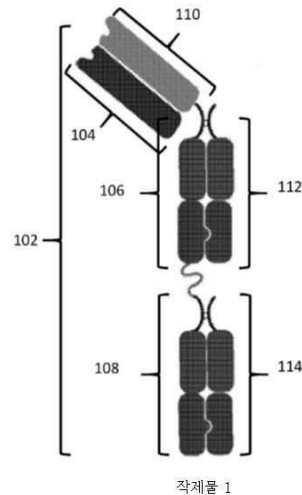
전체 청구항 수 : 총 415 항

(54) 발명의 명칭 CD38 표적화 조작된 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 관련된 조성물 및 방법

(57) 요약

CD38 결합 도메인 및 2개 이상의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 작제물, 및 이러한 작제물을 사용하는 방법과 같이 기재되어 있다. 이러한 작제물을 구성하는 폴리펩티드가 또한 기재되어 있다. 작제물에 포함되는 Fc 도메인 단량체는 동중이량체화 또는 이중이량체화를 촉진하는 아미노산 치환을 포함할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 16/468 (2013.01)
C07K 2317/524 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/565 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2317/732 (2013.01)
C07K 2317/734 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/733,036 2018년09월18일 미국(US)
62/744,067 2018년10월10일 미국(US)

(72) 발명자

오티즈 다니엘

미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301

란싱 조나단 씨.

미국 메사추세츠주 02142 케임브리지 빈니 스트리트 301

명세서

청구범위

청구항 1

CD38 결합 도메인 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하며, 제1 및 제2 Fc 도메인은 각각 이중이량체화 선택성 모듈 또는 동중이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 2

CD38 결합 도메인; 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 2개의 Fc 도메인 단량체는 이중이량체화 선택성 모듈 또는 동중이량체화 선택성 모듈을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 3

제2항에 있어서, CD38 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 4

제2항에 있어서, CD38 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 5

제2항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 6

제2항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 7

제2항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 모두 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 8

제2항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 9

제2항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 10

제2항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 11

청구항 23

제2항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 24

제23항에 있어서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 25

제24항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P인, 폴리펩티드.

청구항 26

제2항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 27

제26항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 28

제26항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 29

제26항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 30

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 31

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 32

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 33

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 34

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 35

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 36

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 37

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 38

제30항 내지 제37항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 39

제2항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 40

제39항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이인, 폴리펩티드.

청구항 41

제39항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 42

제2항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 43

제5항, 제6항 및 제9항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 44

제2항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 scFv인, 폴리펩티드.

청구항 45

제2항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 46

제43항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 47

제45항에 있어서, VH 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 48

제45항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 49

제45항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 50

제45항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 51

제45항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 52

제45항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 53

제45항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 54

제45항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 55

제2항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 56

제2항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메

인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있는, 폴리펩티드.

청구항 57

제1 또는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 내 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결된 제2항 내지 제56항 중 어느 한 항의 폴리펩티드의 2개의 카피를 포함하는 폴리펩티드 복합체.

청구항 58

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 제2항 내지 제56항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하며, 상기 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 59

제58항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함물부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 60

제59항에 있어서, 유전자 조작 함물부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 61

제58항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 62

CD38 결합 도메인; 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 63

제62항에 있어서, CD38 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 64

제62항에 있어서, CD38 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 65

제62항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 66

제62항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 67

제62항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 IgG 불변 도메인 단량체는 모두 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 78

제62항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 독립적으로 4 내지 30개, 4 내지 20개, 8 내지 30개, 8 내지 20개, 12 내지 20개 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 79

제62항에 있어서, 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 80

제62항 내지 제79항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 81

제80항에 있어서, EU 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 82

제81항에 있어서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A인, 폴리펩티드.

청구항 83

제62항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 84

제83항에 있어서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 85

제84항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P인, 폴리펩티드.

청구항 86

제62항 내지 제85항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 87

제86항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 88

제86항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 89

제86항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 90

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 91

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 92

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 93

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 94

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 95

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 96

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 97

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 98

제90항 내지 제97항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K,

E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 99

제62항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 100

제99항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이인, 폴리펩티드.

청구항 101

제99항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 102

제62항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 103

제65항, 제66항 및 제69항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 104

제62항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 scFv인, 폴리펩티드.

청구항 105

제62항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 106

제103항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 107

제105항에 있어서, VH 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 108

제105항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 109

제105항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 110

제105항에 있어서, VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 111

제105항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 112

제105항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 113

제105항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 114

제105항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 115

제62항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 116

제62항 내지 제103항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있는, 폴리펩티드.

청구항 117

제1 또는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 내 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결된 제2항 내지 제56항 중 어느 한 항의 폴리펩티드의 2개의 카피를 포함하는 폴리펩티드 복합체.

청구항 118

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 제62항 내지 제116항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하며, 상기 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 119

제118항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 120

제129항에 있어서, 제2 폴리펩티드 단량체는 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 상기 폴리펩티드 내의 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이에 상보적인, 폴리펩티드 복합체.

청구항 121

제118항 내지 제120항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드 복합체.

청구항 122

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는

유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 123

제122항에 있어서, 제1 IgG1 단량체에 항체 중쇄 가변 도메인 및 CH1 도메인 아미노 말단을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 124

제122항에 있어서, 제1 IgG1 단량체에 scFv 아미노 말단을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 125

제122항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 126

제122항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 127

제122항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG 불변 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 128

제2항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 129

제122항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 130

제122항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 131

제122항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하고, 제1 IgG1 도메인 단량체는 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 132

제122항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이를 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체는 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 133

제122항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 및 역전하 돌연변이는 CH3 도메인에 있는, 폴리펩티드.

청구항 134

힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 135

제134항에 있어서, 제1 IgG1 단량체에 항체 중쇄 가변 도메인 및 CH1 도메인 아미노 말단을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 136

제134항에 있어서, 제1 IgG1 단량체에 scFv 아미노 말단을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 137

제134항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 138

제134항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 또는 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 139

제134항에 있어서, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG 불변 도메인 단량체는 모두 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 140

제134항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 141

제134항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 142

제134항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 143

제134항에 있어서, 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 또는 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하는, 폴리펩티드.

제154항에 있어서, EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 156

제155항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P인, 폴리펩티드.

청구항 157

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, 폴리펩티드.

청구항 158

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 159

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 160

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 갖는, 폴리펩티드.

청구항 161

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 162

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 163

(내용 없음)

청구항 164

(내용 없음)

청구항 165

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDITLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 166

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 아미노산 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 167

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 168

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 169

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 170

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 171

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 172

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 173

제99항에 있어서, 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에서의 역전하 돌연변이인, 폴리펩티드.

청구항 174

제173항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 EU 위치 G341에서 EU 위치 K447까지의 서열 내에 있는, 폴리펩티드.

청구항 175

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 176

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로부터 선택되는, 폴리펩티드.

청구항 177

(내용 없음)

청구항 178

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 179

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 180

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 181

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 182

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 183

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 184

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일한, 폴리펩티드.

청구항 185

제123항, 제124항, 제135항 및 제136항 중 어느 한 항에 있어서, VH 도메인 또는 ScFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 186

제122항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 추가로 포함하는, 폴리펩티드.

청구항 187

제2항 내지 제187항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자.

청구항 188

제187항의 핵산 분자를 포함하는 발현 벡터.

청구항 189

제187항의 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포.

청구항 190

제188항의 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 191

제2항 내지 제187항 중 어느 한 항의 폴리펩티드의 제조 방법으로서, 상기 폴리펩티드를 발현하는 조건 하에서 제189항 또는 제190항의 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 192

제189항에 있어서, 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 193

제190항에 있어서, 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 194

제189항에 있어서, 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는, 숙주 세포.

청구항 195

제190항에 있어서, 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는, 숙주 세포.

청구항 196

제189항에 있어서, 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는, 숙주 세포.

청구항 197

제190항에 있어서, 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 포함하는 숙주 세포.

청구항 198

(내용 없음)

청구항 199

제196항 또는 제197항에 있어서, IgG1 Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에서 10개, 8개, 6개 또는 4개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 숙주 세포.

청구항 200

제2항 내지 제186항 중 어느 한 항의 폴리펩티드를 포함하는 약학 조성물.

청구항 201

제200항에 있어서, 상기 폴리펩티드의 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 2% 미만은 Fc 도메인 단량체에 적어도 하나의 푸코스 변형을 갖는, 약학 조성물.

청구항 202

제1항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인은

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,

c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드 및

d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 203

제1항 또는 제202항에 있어서, 단일 Fc 도메인 작제물은 항체인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 204

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,

c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드 및

d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하는, 조성물.

청구항 205

제204항에 있어서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결되거나, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되는, 조성물.

청구항 206

제204항에 있어서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되는, 조성물.

청구항 207

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드 및
- d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 208

제207항에 있어서, 생물학적 활성은 Fc 수용체 매개 효과기 기능인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 209

제208항에 있어서, Fc 수용체 매개 효과기 기능은 ADCC 및 ADCP 및/또는 CDC 활성인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 210

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 스페이서,
 - b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
 - c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드 및
 - d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 211

제202항, 제207항 또는 제210항에 있어서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결되거나, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 212

제202항, 제207항 또는 제210항에 있어서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 213

제1항 및 제202항 내지 제212항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 Fab인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 214

제202항 내지 제212항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산

서열의 일부인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 215

제214항에 있어서, CD38 결합 도메인은 scFv인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 216

제202항 내지 제212항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함하고, V_H 및 C_H1 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 217

제216항에 있어서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 218

제217항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 219

제216항에 있어서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 220

제216항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 221

제216항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일한, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 222

제216항에 있어서, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 223

제1항 및 제202항 내지 제215항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 224

제1항 및 제202항 내지 제215항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 225

제1항 및 제202항 내지 제215항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 V_H 및

V_L 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일한, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 226

제1항 및 제202항 내지 제215항 중 어느 한 항에 있어서, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 227

제1항 및 제202항 내지 제212항 중 어느 한 항에 있어서, IgG C_L 항체 불변 도메인 및 IgG C_H1 항체 불변 도메인을 추가로 포함하며, IgG C_H1 항체 불변 도메인은 링커를 통해 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드의 N-말단에 부착되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 228

제202항 내지 제227항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 229

제202항 내지 제228항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 230

제202항 내지 제228항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 동일한 아미노산 서열을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 231

제228항 또는 제229항에 있어서, 이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인 단량체 중 하나의 C_H3 도메인에 유전자 조작 함몰부를 포함하고, Fc 도메인 단량체 중 다른 하나의 C_H3 도메인에 유전자 조작 돌출부를 포함하며, 유전자 조작 함몰부와 유전자 조작 돌출부는 Fc 도메인 단량체의 돌출부-함몰부 쌍을 형성하도록 위치되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 232

제231항에 있어서, 유전자 조작 돌출부는 S354C, T366W, T366Y, T394W, T394F 및 F405W로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나의 변형을 포함하며, 유전자 조작 함몰부는 Y349C, T366S, L368A, Y407V, Y407T, Y407A, F405A 및 T394S로 이루어진 군에서 선택되는 적어도 하나의 변형을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 233

제228항 또는 제229항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 하나는 Y407V 및 Y349C를 포함하고, Fc 도메인 단량체 중 다른 하나는 T366W 및 S354C를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 234

제228항 또는 제229항에 있어서, 이량체화 선택성 모듈은 도메인 단량체 중 하나의 C_H3 도메인에 음전하 아미노산을 포함하고, Fc 도메인 단량체 중 다른 하나의 C_H3 도메인에 양전하 아미노산을 포함하며, 음전하 아미노산 및 양전하 아미노산은 Fc 도메인의 형성을 촉진하도록 위치되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 235

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 D399K 및 K409D 또는 K409E를 포함하

는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 236

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 K392D 및 D399K를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 237

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370E를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 238

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 D356K 및 K439D를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 239

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 K392E 및 D399K를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 240

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370D를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 241

제234항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 D356K 및 K439E를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 242

제234항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 S354C 및 T366W를 포함하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 243

제234항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 S354C 및 T366W를 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 244

제234항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 또는 E357R을 포함하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 K370D 또는 K370E를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 245

제234항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 K370D 또는 K370E를 포함하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 E357K 또는 357R을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 246

제234항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 K409D 또는 K409E를 포함하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 D399K 또는 D399R을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 247

제234항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 D399K 또는 D399R을 포함하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 각각 K409D 또는 K409E를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 260

제259항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 261

제260항에 있어서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 R292P인, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 262

제1항 및 제202항 내지 제261항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 하나 이상은 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 263

제262항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 264

제262항 또는 제263항에 있어서, IgG는 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군에서 선택되는 아형을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 265

제1항 및 제202항 내지 제264항 중 어느 한 항에 있어서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 각각에서 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이된, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 266

제1항 및 제202항 내지 제265항 중 어느 한 항에 있어서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 중 하나 이상에는 C-말단 라이신이 결여되어 있는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 267

제266항에 있어서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드의 각각에는 C-말단 라이신이 결여되어 있는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 268

제1항 및 제202항 내지 제267항 중 어느 한 항에 있어서, 링커에 의해 하나 이상의 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결되는 알부민-결합 펩티드를 추가로 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 269

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,

c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드 및

d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하는, 세포 배양 배지.

청구항 270

제269항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 75 몰%는 제1 Fc 도메인, 제2 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 포함하는, 세포 배양 배지.

청구항 271

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 적어도 0.1 mg/L의 농도로 배양 배지에 존재하는, 세포 배양 배지.

청구항 272

제271항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 75 몰%는 구조적으로 동일한, 세포 배양 배지.

청구항 273

제269항 내지 제272항 중 어느 한 항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 적어도 10 mg/L의 농도로 배양 배지에 존재하는, 세포 배양 배지.

청구항 274

제269항 내지 제273항 중 어느 한 항에 있어서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 적어도 100 mg/L의 농도로 배양 배지에 존재하는, 세포 배양 배지.

청구항 275

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

(2) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; (3) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 (4) 항원 결합 도메인을 발현하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드와 연결되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하고, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 276

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,

- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인 및
- e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, 조성물.

청구항 277

제276항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상이한 아미노산 서열을 갖는, 조성물.

청구항 278

제277항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370D를 포함하고, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 K370D 및 E357K를 포함하는, 조성물.

청구항 279

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인,
- e) 제2 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인 및
- f) 제3 폴리펩티드에 연결된 제3 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1, 제2 및 제3 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, 조성물.

청구항 280

제279항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상이한 아미노산 서열을 갖는, 조성물.

청구항 281

제280항에 있어서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370D를 포함하고, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 K370D 및 E357K를 포함하는, 조성물.

청구항 282

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
- v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
- vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및

e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, 조성물.

청구항 283

제282항에 있어서, 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 284

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
- v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
- vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및

e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, 조성물.

청구항 285

제284항에 있어서, 제2 Fc 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 286

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커; 및
- v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- vi) 제4 Fc 도메인 단량체;
- vii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- viii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 링커; 및
- x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 링커,

c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,

f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드 및

g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하는, 조성물.

청구항 287

제286항에 있어서, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 각각 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 각각 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 288

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인 및
- e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원에 결합하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 검정, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP), 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 289

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인 및
- e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 290

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 스페이서,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인 및

e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 291

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체;

ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및

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

b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,

c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인 및

e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, 세포 배양 배지.

청구항 292

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체;

ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및

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

(2) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드, (3) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드, (4) 제1 폴리펩티드에 연결되는 제1 항원 결합 도메인 및 (5) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결되는 제2 항원 결합 도메인을 발현하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드와 연결되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하고, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하며, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 293

제288항, 제289항, 제290항, 제291항 또는 제292항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 상이한

아미노산 서열을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 294

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인,
- e) 제2 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인 및
- f) 제3 폴리펩티드에 연결된 제3 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1, 제2 및 제3 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 검정, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 295

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체,
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인,
- e) 제2 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인 및
- f) 제3 폴리펩티드에 연결된 제3 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1, 제2 및 제3 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 296

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및

- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 스페이서,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인,
- e) 제2 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인 및
- f) 제3 폴리펩티드에 연결된 제3 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1, 제2 및 제3 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 297

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드,
- c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 항원 결합 도메인,
- e) 제2 폴리펩티드에 연결된 제2 항원 결합 도메인 및
- f) 제3 폴리펩티드에 연결된 제3 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1, 제2 및 제3 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하는, 세포 배양 배지.

청구항 298

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

- a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

(2) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드, (3) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드, (4) 제1 폴리펩티드에 연결되는 제1 항원 결합 도메인, (5) 제2 폴리펩티드에 연결되는 제2 항원 결합 도메인 및 (6) 제3 폴리펩티드에 연결되는 제3 항원 결합 도메인을 발현하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드와 연결되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하며, 제1 및 제2 항원 결합 도메인은 상이한 항원과 결합하고, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 299

제294항, 제295항, 제296항, 제297항 또는 제298항에 있어서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 상이한 아미노산 서열을 갖는, 조성물.

청구항 300

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
- v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
- vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및

e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 검정, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 301

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
- iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
- v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
- vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및

e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 302

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 스페이서,
 - b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 스페이서,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
 - d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
 - e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 303

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 물%는

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,
- c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
- e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, 세포 배양 배지.

청구항 304

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체;

ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및

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

(2) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

iv) 제3 Fc 도메인 단량체;

v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및

vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

(3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

(4) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및

(5) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 발현하며,

제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하며, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 305

제300항, 제301항, 제302항, 제303항 또는 제304항에 있어서, 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 306

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체;

ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및

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

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

iv) 제3 Fc 도메인 단량체;

- v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
 - d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
 - e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 검정, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 307

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,
 - b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
 - d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
 - e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 308

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 스페이서,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및

- vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 스페이서,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
 - d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
 - e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 309

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 물%는

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,
 - b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
 - d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드 및
 - e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,
- 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, 세포 배양 배지.

청구항 310

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

- a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는
 - (1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체; 및
 - iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커,
 - (2) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - iv) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - v) 제4 Fc 도메인 단량체; 및
 - vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

(3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;

(4) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및

(5) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 발현하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 311

제306항, 제307항, 제308항, 제309항 또는 제310항에 있어서, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 312

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

i) 제1 Fc 도메인 단량체;

ii) 제2 Fc 도메인 단량체;

iii) 제3 Fc 도메인 단량체;

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

v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

vii) 제4 Fc 도메인 단량체;

vii) 제5 Fc 도메인 단량체;

viii) 제6 Fc 도메인 단량체;

ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 링커; 및

x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 링커,

c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,

f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드 및

g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인

을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 검정, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 검정에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 313

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커; 및
 - v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - vi) 제4 Fc 도메인 단량체;
 - vii) 제5 Fc 도메인 단량체;
 - viii) 제6 Fc 도메인 단량체;
 - ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 링커; 및
 - x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 링커,
- c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,
- f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드 및
- g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 314

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 스페이서; 및
 - v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 스페이서,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- vi) 제4 Fc 도메인 단량체;
- vii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- viii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 스페이서; 및
- x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 스페이서,

- c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,
- f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드 및

g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 315

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지로서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 스페이서; 및
- v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 스페이서,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- vi) 제4 Fc 도메인 단량체;
- vii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- viii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 스페이서; 및
- x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 스페이서,

- c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,
- f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드 및

g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에

연결되는 항원 결합 도메인을 포함하며,

제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하는, 세포 배양 배지.

청구항 316

Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법으로서,

a) 숙주 세포를 배양하는 단계로서, 상기 숙주 세포는

(1) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 스페이서; 및
- v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 스페이서,

(2) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- vi) 제4 Fc 도메인 단량체;
- vii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- viii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- ix) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 스페이서; 및
- x) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 스페이서,

(3) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;

(4) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드;

(5) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드;

(6) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드; 및

(7) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결되는 항원 결합 도메인을 발현하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하고, 세포 배양 상청액에 있는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일한, 단계 및

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

청구항 317

제312항, 제313항, 제314항, 제315항 또는 제316항에 있어서, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 각각 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택

성 모듈을 포함하고, 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 각각 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 318

제1항 내지 제317항 중 어느 한 항에 있어서, 하나 이상의 Fc 도메인 단량체는 항원 결합 작제물 또는 폴리펩티드.

청구항 319

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
- iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제3 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제4 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
- iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드 및

f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 320

제319항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 321

제319항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 322

제319항에 있어서, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 323

제319항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 324

제319항 내지 제323항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개,

4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 325

제319항 내지 제323항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 326

제319항 내지 제323항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 327

제324항 내지 제326항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 328

제319항 내지 제323항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 329

제319항 내지 제323항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 330

제328항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 331

제329항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 332

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
- iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제3 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제4 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인; 및

- iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
 - c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드; 및
 - f) 제6 Fc 도메인 단량체와 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하며,
- 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 333

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
 - iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - i) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제4 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
 - iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드 및
- f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 334

제333항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 335

제333항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 336

제333항에 있어서, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 337

제333항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 338

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 339

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 340

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 341

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 단량체.

청구항 342

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 343

제333항 내지 제337항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 344

제342항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 345

제343항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 346

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인;
- v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
- vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제4 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인;
- v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
- vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,

f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드,

g) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드 및

h) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제5 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 347

제346항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 348

제346항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 349

제346항에 있어서, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 350

제346항에 있어서, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 351

제346항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 352

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 353

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 354

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 355

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 단량체.

청구항 356

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 357

제346항 내지 제351항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고, 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 358

제357항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 359

제358항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 360

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인;
- v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
- vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제4 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제6 Fc 도메인 단량체;

- iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인;
 - v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
 - vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제9 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드, 및
- f) 제10 Fc 도메인 단량체 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,
- 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제5 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 361

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

- a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인;
 - v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
 - vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- i) 제4 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제5 Fc 도메인 단량체;
 - iii) 제6 Fc 도메인 단량체;
 - iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인;
 - v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
 - vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,
- f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드,
- g) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드, 및
- h) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제5 및 제8 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경

쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 362

제361항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 363

제361항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 364

제361항에 있어서, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 365

제361항에 있어서, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 366

제361항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 367

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 368

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 369

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 370

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 단량체.

청구항 371

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 372

제361항 내지 제366항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고, 제5 및 제8 Fc 도메인 단량체는 제5 및 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고, 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는,

Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 373

제371항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 374

제372항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 375

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제3 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인;
- v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
- vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제4 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제5 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제6 Fc 도메인 단량체;
- iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인;
- v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커; 및
- vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,

d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제9 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드, 및

f) 제10 Fc 도메인 단량체 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제5 및 제8 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 376

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;

- iii) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - i) 제3 Fc 도메인 단량체;
 - ii) 제4 Fc 도메인 단량체;
 - iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드,
- d) 제6 Fc 도메인 단량체와 제2 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드,
- e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드, 및
- f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 377

제202항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 378

제202항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 379

제202항에 있어서, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 380

제202항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 381

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 382

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 383

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 384

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 단량체.

청구항 385

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 386

제376항 내지 제380항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 387

제385항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 388

제386항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 389

Fc-항원 결합 도메인 작제물로서,

a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

- i) 제1 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제2 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
- iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- i) 제3 Fc 도메인 단량체;
- ii) 제4 Fc 도메인 단량체;
- iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인; 및
- iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제3 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드,

f) 제6 Fc 도메인 단량체와 제4 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드,

e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드,

f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드,

g) 제3 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드, 및

h) 제4 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,

제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 경쇄 결합 도메인 및 제3 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 경쇄 결합 도메인 및 제4 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하고, 제3 CD38 경쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제3 Fab를 형성하며; 제4 CD38 경쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 390

제389항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 391

제389항에 있어서, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 392

제389항에 있어서, 제5, 제6, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 393

제389항에 있어서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5, 제6, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일한, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 394

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 395

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 396

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 397

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있는, Fc 항원 도메인 단량체.

청구항 398

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 399

제389항 내지 제393항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하는, Fc 항원 도메인 작제물.

청구항 400

제398항에 있어서, 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 401

제399항에 있어서, 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택되는, Fc-항원 도메인 작제물.

청구항 402

제319항 내지 제401항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GGSGGS, GGSGGSGGS, GGSGGSGSGGS, GGSG, GGSG, GGSGGGSG, GGSGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGGSGSGSSGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GGSGGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSGGS, GGGSGGGSGGS, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GGSGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 403

제319항 내지 제401항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 치환을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 404

제403항에 있어서, EU 위치 I253에서의 아미노산 치환은 각각 I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 405

제319항 내지 제401항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 치환을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 406

제45항에 있어서, EU 위치 R292에서의 아미노산 치환은 각각 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

[청구항 405]

제319항 내지 제401항 중 어느 한 항에 있어서, Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K, 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되는 치환을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 407

제319항 내지 제401항 중 어느 한 항에 있어서, 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로 EPKSCDKTHTCPPAPELL 및 DKHTCPPAPELL로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는, Fc-항원 결합 도메인 작제물.

청구항 408

(내용 없음)

청구항 409

제1항 내지 제408항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 E345K 또는 E430G 아미노산 치환을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 폴리펩티드.

청구항 410

제1항 내지 제409항 전술한 중 어느 한 항의 작제물을 포함하는 조성물을 투여하는 단계를 포함하는 암 또는 자가면역 질환의 치료 방법.

청구항 411

제410항에 있어서, 상기 암은 혈액학적 악성 종양 및/또는 고형 종양으로 이루어진 적응증의 군에서 선택되는,

방법.

청구항 412

제410항에 있어서, 상기 암은 위암, 유방암, 결장암, 폐암, 외투 세포 림프종, 급성 림프 아구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, NK 세포 백혈병, NK/T-세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 형질 세포 백혈병 및 다발성 골수종 으로부터 선택되는, 방법.

청구항 413

제411항 또는 제412항에 있어서, 상기 암은 다라투루맙 또는 임의의 다른 치료적 항-CD38 단일클론 항체 치료에 내성인, 방법.

청구항 414

제411항에 있어서, 상기 자가면역 질환은 하기 항체 매개 질환으로 이루어진 군 으로부터 선택되는, 방법: 중증 근무력증(Myasthenia Gravis: MG), MuSK-MG, 심근염, 램버트 이톤(Lambert Eaton) 근육 무기력 증후군, 신경근 육긴장증, 시신경척수염, 기면증, 급성 운동 축색 돌기 신경병증, 길랭-바레(Guillain-Barre) 증후군, 휘셔(Fisher) 증후군, 급성 감각실조 신경병증, 부수종양성 강직인간(Paraneoplastic Stiff Person) 증후군, 만성 신경병증, 말초성 신경병증, 급성산재성뇌척수염, 다발성 경화증, 굿파스처 증후군(Goodpasture Syndrome), 막성신장병, 사구체신염, 폐포단백증, CIPD, 자가면역성용혈성빈혈, 자가면역혈소판감소성자반증, 심상성천포창, 낙엽상천포창, 수포성 유사천포창, 임신유신성 천포창(pemphigoid gestationis), 후천성 수포성 표피박리증, 신생아 홍반성 낭창, 포진형 피부염, 그레이브스병(Graves Disease), 에디슨병(Addison's Disease), 난소기능부전증, 자가면역 고환염, 쇼그렌증후군(Sjogren's Disease), 자가면역성 위축성위염, 류마티스 관절염, SLE, 안구건조증, 혈관염(급성), 심장염, 항체 매개성 거부반응(antibody-mediated rejection).

청구항 415

제411항에 있어서, 악성 종양은 하기의 형질모세포 및 형질 세포가 질병 병인을 유발하는 질환으로 이루어진 군에서 선택되는 방법: AL 아밀로이드증, 캐슬만병(Castleman's disease), 의미 불명 단클론성 감마글로불린병증(MGUS), 의미불명 이클론성 감마글로불린병증, 골경화성 골수종(POEMS 증후군), 중쇄 질환, 고립성 형질세포종, 골수의 형질세포종.

발명의 설명

기술 분야

배경 기술

[0001] CD38은 정상 및 악성 형질아세포와 형질 세포에서 고밀도로 특정 림프 및 골수 세포에서 낮은 수준으로 발현되는 II형 막관통 당단백질이다. 다잘렉스(다라투루맙)는 재발성, 불응성 다발성 골수종 및 새로 진단된 다발성 골수종에 대해 승인된 항-CD38 세포용해 단일클론 항체이다.

발명의 내용

[0002] 본 발명은 CD38 결합 도메인을 적어도 2개의 Fc 도메인과 결합하여 고유의 생물학적 활성을 갖는 새로운 치료제를 생성하기 위한 조성물 및 방법을 특징으로 한다.

[0003] 일부 경우에, 본 발명은 단일 Fc 도메인 함유 치료제를 표적으로 하는 공지의 CD38의 CD38 결합 도메인, 예를 들어, 공지의 치료적 CD38 항체를 적어도 2개의 Fc 도메인과 조합하여 공지의 CD38 항체보다 큰 생물학적 활성을 갖는 신규 치료제를 생성하는 것을 고려한다. 이러한 작제물을 생성하기 위해, 본 발명은 적어도 2개의, 예를 들어 다수의 Fc 도메인을 갖는 작제물을 조립하는 방법, 및 제한된 수의 폴리펩티드로부터 개별 크기의 분자를 조립하기 위해 이러한 Fc 도메인의 동종이량체화 및 이종이량체화를 제어하기 위한 다양한 방법을 제공한다. 이러한 작제물의 특성은 실질적으로 균질한 약학 조성물의 효율적인 생성을 가능하게 한다. 약학 조성물에서의 이러한 균질성은 약학 조성물의 안전성, 효능, 균일성 및 신뢰성을 보장하기 위해 바람직하다.

- [0004] 제1 양태에서, 본 발명은 강화된 효과기 기능을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 CD38 결합 도메인, 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 갖는다.
- [0005] 제2 양태에서, 본 발명은 CD38 결합 도메인, 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.
- [0006] 제3 양태에서, 본 발명은 CD38 결합 도메인, 및 링커에 의해 제2 Fc 도메인에 연결된 제1 Fc 도메인을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함한다.
- [0007] 제4 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.
- [0008] 제4 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에, 또는 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되거나, 또는 CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된다.
- [0009] 제5 양태에서, 본 발명은 강화된 효과기 기능을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하고; 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 갖는다.
- [0010] 제5 양태의 일부 구현예에서, 단일 Fc 도메인 작제물은 항체이다.
- [0011] 제6 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함한다.
- [0012] 제6 양태의 일부 구현예에서, 생물학적 활성은 Fc 수용체 매개 효과기 기능, 예컨대 ADCC, ADCP 및/또는 CDC 활성(예를 들어, ADCC 및 ADCP 활성, ADCC 및 CDC 활성, ADCP 및 CDC 활성, 또는 ADCC, ADCP 및 CDC 활성)이다.
- [0013] 제7 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 스페이서를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 하며; 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성한다.
- [0014] 본 발명의 제5, 제6, 및 제7 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에, 또는 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되거나, 또는 CD38 결합 도메인은 제1

폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된다.

- [0015] 본 발명의 제1, 제2, 제3 및 제4 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 Fab 또는 Fab의 V_H 이다.
- [0016] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, 결합 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이고, 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 scFv이다.
- [0017] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함하고, V_H 및 C_H1 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하며, 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.
- [0018] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하며, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하고, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 도메인을 포함하며, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 V_H 및 V_L 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나 또는 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트를 포함한다.
- [0019] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 IgG C_L 항체 불변 도메인 및 IgG C_H1 항체 불변 도메인을 추가로 포함하며, IgG C_H1 항체 불변 도메인은 링커를 통해 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드의 N-말단에 부착된다.
- [0020] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.
- [0021] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.
- [0022] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인 단량체 중 하나의 C_H3 도메인에 유전자 조작 함몰부를 포함하고 Fc 도메인 단량체 중 다른 하나의 C_H3 도메인에 유전자 조작 돌출부를 포함하며, 유전자 조작 함몰부와 유전자 조작 돌출부는 Fc 도메인 단량체의 돌출부-함몰부 쌍을 형성하도록 위치된다. 일부 구현예에서, 유전자 조작 돌출부는 S354C, T366W, T366Y, T394W, T394F 및 F405W로부터 선택되는 적어도 하나의 변형을 포함하고, 유전자 조작 함몰부는 Y349C, T366S, L368A, Y407V, Y407T, Y407A, F405A 및 T394S로부터 선택되는 적어도 하나의 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체의 하나는 Y407V 및 Y349C를 포함하며, Fc 도메인 단량체의 다른 하나는 T366W 및 S354C를 포함한다.
- [0023] 본 발명의 제4, 제5, 제6 및 제7 양태의 일부 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 도메인 단량체의 하나의 C_H3 도메인에 음전하 아미노산 및 Fc 도메인 단량체의 다른 하나의 C_H3 도메인에 양전하 아미노산을 포함하며, 음전하 아미노산과 양전하 아미노산은 Fc 도메인의 형성을 촉진하도록 위치된다. 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체 각각은 D399K와 K409D 또는 K409E 중 하나를 포함하거나, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체 각각은 K392D와 D399K를 포함하거나, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체

상의 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결된 알부민-결합 펩티드를 추가로 포함한다.

- [0034] 제8 양태에서, 본 발명은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지를 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 적어도 0.1 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L 또는 100 mg/L의 농도로 배양 배지에 존재한다.
- [0035] 본 발명의 제8 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 75 몰%, 적어도 85 몰% 또는 적어도 95 몰%는 구조적으로 동일하다.
- [0036] 제9 양태에서, 본 발명은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지를 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성한다.
- [0037] 본 발명의 제9 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 75 몰%, 적어도 85 몰% 또는 적어도 95 몰%는 제1 Fc 도메인, 제2 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 포함한다.
- [0038] 제10 양태에서, 본 발명은 a) (1) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; (2) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; (3) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 (4) CD38 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계(여기서, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고; CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에 연결되어, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성하며; 세포 배양 상청액 중의 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일함), 및 b) 세포 배양 상청액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법을 특징으로 한다.
- [0039] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드 또는 제3 폴리펩티드에, 또는 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결되거나, 또는 CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된다.
- [0040] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 Fab 또는 V_H 이다.
- [0041] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이고, 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 scFv이다.
- [0042] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_H1 도메인을 포함하며, V_H 및 C_H1 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하고, 일부 구현예에서, Fc 항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.
- [0043] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하며, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하고, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열

GGGGGGGGGGGGGGGG를 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 스페이서는 글리신 스페이서, 예를 들어, 4 내지 30, 8 내지 30 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어진 것, 예컨대 20개의 글리신 잔기로 이루어진 스페이서이다.

- [0052] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 링커에 의해 Fc 도메인 단량체에 연결된다. 일부 구현예에서, 링커는 스페이서이다.
- [0053] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, 적어도 하나의 Fc 도메인은 위치 I253에서 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 변형은 독립적으로 I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 I253에서의 각각의 아미노산 변형은 I253A이다.
- [0054] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, 적어도 하나의 Fc 도메인은 위치 R292에서 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 독립적으로 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 R292P이다.
- [0055] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, 하나 이상의 Fc 도메인 단량체는 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, 각각의 Fc 도메인 단량체는 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG는 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택되는 아형을 갖는다.
- [0056] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 각각의 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이된다.
- [0057] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 중 하나 이상에는 C-말단 라이신이 결여되어 있다. 일부 구현예에서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 각각에는 C-말단 라이신이 결여되어 있다.
- [0058] 본 발명의 제9 및 제10 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 자체물은 링커에 의해 하나 이상의 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결된 알부민-결합 펩티드를 추가로 포함한다.
- [0059] 본 발명의 제11 양태의 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상이한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0060] 본 발명의 제11 양태의 일부 구현예에서, 제1 CD38 결합 도메인은 제1 폴리펩티드에 연결되고, 제2 CD38 결합 도메인은 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드에 연결된다.
- [0061] 본 발명의 제11 양태의 일부 구현예에서 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370D를 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 K370D 및 E357K를 포함한다.
- [0062] 본 발명의 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제2 폴리펩티드와 제3 폴리펩티드는 상이한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0063] 본 발명의 제12 양태의 일부 구현예에서, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 D399K 및 K409D를 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 E357K 및 K370D를 포함한다.
- [0064] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1 또는 CD38 결합 도메인은 Fab 또는 V_H 도메인이다. 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1 및 제2 CD38 결합 도메인은 Fab이다. 본 발명의 제9 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2 및 제3 CD38 결합 도메인은 Fab 또는 V_H 도메인이다.

- [0065] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1 또는 제2 CD38 결합 도메인은 scFv이다. 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1 및 제2 CD38 결합 도메인은 scFv이다. 본 발명의 제9 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2 및 제3 CD38 결합 도메인은 scFv이다.
- [0066] 본 발명의 제11 양태의 일부 구현예에서, 제1 또는 제2 CD38 도메인은 V_H 도메인 및 C_{H1} 도메인을 포함하며, V_H 및 C_{H1} 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하며, 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.
- [0067] 본 발명의 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2 또는 제3 CD38 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_{H1} 도메인을 포함하며, V_H 및 C_{H1} 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하며, 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나 (CDR-H1, CDR-H2, 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일함), 또는 V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.
- [0068] 본 발명의 제11 양태의 일부 구현예에서, 제1 또는 제2 CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인과 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 V_H 및 V_L 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나 또는 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트를 포함한다.
- [0069] 본 발명의 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2 또는 제3 CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인과 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 V_H 및 V_L 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트를 포함한다.
- [0070] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 IgG C_L 항체 불변 도메인 및 IgG C_{H1} 항체 불변 도메인을 추가로 포함하며, IgG C_{H1} 항체 불변 도메인은 링커를 통해 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드의 N-말단에 부착된다.

- [0079] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 중 적어도 하나는 위치 R292에서 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로부터 독립적으로 선택된다. 일부 구현예에서, 위치 R292에서의 각각의 아미노산 변형은 R292P이다.
- [0080] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 중 하나 이상은 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체 각각은 IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG는 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군에서 선택되는 아형을 갖는다.
- [0081] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 각각에서 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이된다.
- [0082] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드 중 하나 이상에는 C-말단 라이신이 결여되어 있다. 일부 구현예에서, 각각의 제1, 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드에는 C-말단 라이신이 결여되어 있다.
- [0083] 본 발명의 제11 및 제12 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 링커에 의해 하나 이상의 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결된 알부민-결합 펩티드를 추가로 포함한다.
- [0084] 제13 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) i) 제3 Fc 도메인 단량체, ii) 제4 Fc 도메인 단량체 및 iv) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.
- [0085] 본 발명의 제13 양태의 일부 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.
- [0086] 제14 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) i) 제3 Fc 도메인 단량체, ii) 제4 Fc 도메인 단량체 및 iv) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.
- [0087] 본 발명의 제14 양태의 일부 구현예에서, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제3 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.
- [0088] 제15 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, iii) 제3 Fc 도메인 단량체, iv) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커; 및 v) 제2 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) i) 제4 Fc 도메인 단량체, ii)

제5 Fc 도메인 단량체, iii) 제6 Fc 도메인 단량체, iv) 제4 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제3 링커; 및 v) 제5 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제4 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드; f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드; 및 g) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드, 제4 폴리펩티드, 제5 폴리펩티드 또는 제6 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고, 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하며, 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제4 Fc 도메인을 형성하고, 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제5 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함하는 조성물을 특징으로 한다.

[0089] 본 발명의 제15 양태의 일부 구현예에서, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체 각각은 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체 각각은 제1 Fc 도메인 단량체와 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체 각각은 제4 Fc 도메인 단량체와 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체 각각은 제3 Fc 도메인 단량체와 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체 각각은 제6 Fc 도메인 단량체와 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.

[0090] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 Fab 또는 V_H 도메인이다.

[0091] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 하나 이상의 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이고, 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 scFv이다.

[0092] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_H 도메인 및 C_{H1} 도메인을 포함하며, V_H 및 C_{H1} 도메인은 제1, 제2 또는 제3 폴리펩티드의 아미노산 서열의 일부이다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 V_L 도메인을 추가로 포함하며, 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 V_L 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구현예에서, V_H 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 V_H 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하거나, V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 V_H 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 V_H 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열을 포함한다.

[0093] 본 발명의 제13, 14 및 15 양태의 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하거나, CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 V_H 도메인과 표 2에 기재된 항체의 V_L 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 V_L 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 V_H 및 V_L 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열과 적어도 95% 동일하거나, 적어도 97% 동일하거나, 적어도 99% 동일하거나, 적어도 99.5% 동일하거나, 또는 CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 V_H 및 V_L 서열의 세트를 포함한다.

[0094] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 IgG C_L 항체 불변 도메인 및 IgG C_{H1} 항체 불변 도메인을 추가로 포함하고, IgG C_{H1} 항체 불변 도메인은 링커를 통해 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드의 N-말단에 부착된다.

[0095] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인 단량체 중 하나의

IgG 힌지 도메인, IgG C_H2 항체 불변 도메인 및 IgG C_H3 항체 불변 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, IgG는 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgG4로 이루어진 군으로부터 선택된 아형이다.

- [0103] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, 폴리펩티드 각각에서 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이된다.
- [0104] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, 폴리펩티드 중 하나 이상에서는 C-말단 라이신이 결여되어 있다. 일부 구현예에서, 각각의 폴리펩티드에는 C-말단 라이신이 결여되어 있다.
- [0105] 본 발명의 제13, 제14 및 제15 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 링커에 의해 하나 이상의 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 연결된 알부민-결합 펩티드를 추가로 포함한다.
- [0106] 제16 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; b) 제3 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드; c) 제4 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드에 연결된 제1 CD38 결합 도메인; 및 e) 제2 폴리펩티드 및/또는 제3 폴리펩티드에 연결된 제2 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제1 및 제2 CD38 결합 도메인은 상이한 항원에 결합하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다.
- [0107] 제26 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체, 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) iv) 제3 Fc 도메인 단량체, v) 제4 Fc 도메인 단량체, 및 vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 d) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 갖는, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다.
- [0108] 제27 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) iv) 제3 Fc 도메인 단량체, v) 제4 Fc 도메인 단량체 및 vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하고, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 Fc 도메인과 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다.
- [0109] 제28 양태에서, 본 발명은 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) iv) 제3 Fc 도메인 단량체, v) 제4 Fc 도메인 단량체 및 vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드에 연결된 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다.

- [0110] 제29 양태에서, 본 발명은 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단을 포함하는 세포 배양 배지를 특징으로 하며, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 a) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및 b) iv) 제3 Fc 도메인 단량체, v) 제4 Fc 도메인 단량체 및 vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 e) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드를 연결하는 CD38 결합 도메인을 포함하며, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성한다.
- [0111] 제30 양태에서, 본 발명은 a) (1) i) 제1 Fc 도메인 단량체, ii) 제2 Fc 도메인 단량체 및 iii) 제1 Fc 도메인 단량체와 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제1 링커를 포함하는 제1 폴리펩티드; (2) iv) 제3 Fc 도메인 단량체, v) 제4 Fc 도메인 단량체 및 vi) 제3 Fc 도메인 단량체와 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 제2 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드; 및 (3) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드; (4) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드; 및 (5) 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 제3 폴리펩티드 또는 제4 폴리펩티드를 연결하는 CD38 결합 도메인을 발현하는 숙주 세포를 배양하는 단계(여기서, 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제1 Fc 도메인을 형성하며, 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제2 Fc 도메인을 형성하고, 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체는 결합하여 제3 Fc 도메인을 형성하며, 세포 배양 상정액 중의 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 적어도 50 몰%는 구조적으로 동일함), 및 b) 세포 배양 상정액으로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 단계를 포함하는, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조 방법을 특징으로 한다.
- [0112] 본 발명의 제26, 제27, 제28, 제29 및 제30 양태의 일부 구현예에서, 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 각각 제1 Fc 도메인 단량체와 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 각각 제2 Fc 도메인 단량체와 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 각각 제4 Fc 도메인 단량체와 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이량체화를 촉진하는 상보적 이량체화 선택성 모듈을 포함한다.
- [0113] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 감소된 푸코실화를 갖는다. 따라서, 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물을 포함하는 조성물 중 Fc-도메인 단량체의 40%, 30%, 20%, 15%, 10% 또는 5% 미만은 푸코실화된다.
- [0114] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에 최대 10개(9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개)의 단일 아미노산 변화를 갖는 도 24a의 아미노산 서열(서열 번호 43)을 포함한다.
- [0115] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에 최대 10개(9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개)의 단일 아미노산 변화를 갖는 도 24b의 아미노산 서열(서열 번호 45)을 포함한다.
- [0116] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에 최대 10개(9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개)의 단일 아미노산 변화를 갖는 도 24c의 아미노산 서열(서열 번호 47)을 포함한다.
- [0117] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에 최대 10개(9개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개)의 단일 아미노산 변화를 갖는 도 24d의 아미노산 서열(서열 번호 42)을 포함한다.
- [0118] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, 예를 들어, Fc 도메인 단량체가 폴리펩티드의 카복시-말단에 있을 경우, Fc 도메인 단량체는 K447을 포함하지 않는다. 다른 구현예에서, 예를 들어, Fc 도메인 단량체가 폴리펩티드의 카복시-말단에 있지 않을 경우, Fc 도메인 단량체는 K447을 포함한다.
- [0119] 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, 예를 들어, Fc 도메인 단량체가 링커에 대해 아미노 말단인 경우, Fc 도메인 단량체는 E216에서 C220까지의 힌지 부분을 포함하지 않지만, D221에서 L235까지의 힌지 부분을 포함한다. 다른 구현예에서, 예를 들어, Fc 도메인 단량체가 CH1 도메인에 대해 카복시-말단인 경우, Fc 도메인 단량체는 E216에서 L235까지의 힌지 부분을 포함한다. 본 발명의 모든 양태의 일부 구현예에서, 힌지 도메인, 예를

KAK를 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열
GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하며, 아미노산 서열
GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAK를 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPG를 포함하고; 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되며; 각각의 Fc 도메인 단량체는 독립적으로, 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인 내의 역전하 돌연변이이거나 또는 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이며; 단일 아미노산 치환은 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있고; 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군으로부터 선택되며; 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로부터 선택되고; CD38 결합 도메인은 scFv이며; CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고; CD38 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하며; VH 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하고; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하며; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하며; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하고; CD38 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하며; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터의 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하고; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인, 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하며; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하고; CD38 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하며; CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고, VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있다.

[0124] 제1 또는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결된 상술한 폴리펩티드의 2개의 카피를 포함하는 폴리펩티드 복합체가 또한 기재되어 있다.

[0125] 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제2 폴리펩티드에 연결된 상술한 폴리펩티드를 포함하며, 상기 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 제1, 제2 또는 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 및 제2 폴리펩티드의 힌지 도메인 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결되는, 폴리펩티드 복합체가 또한 기재되어 있다.

[0126] 복합체의 다양한 구현예에서: 제2 폴리펩티드 단량체는 유전자 조작 함몰부를 형성하는 돌연변이를 포함하며;

유전자 조작 합물부를 형성하는 돌연변이는 Y407T, Y407A, F405A, T394S, T394W/Y407A, T366W/T394S, T366S/L368A/Y407V/Y349C, S364H/F405A로 이루어진 군으로부터 선택되고; 제2 폴리펩티드는 최대 10개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0127] 제42 양태에서, 본 발명은 CD38 결합 도메인; 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드를 특징으로 한다.

[0128] 제42 양태의 다양한 구현예에서: CD38 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 도메인을 포함하고; CD38 결합 도메인은 항체 경쇄 가변 도메인을 포함하며; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하며; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체와 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 모두 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고; 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며; 상기 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고; 상기 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고; 상기 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 모두는 각각 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 표 4B에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고; 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 동일한 CH3 도메인을 가지며; 표 4A 및 표 4B에서 선택된 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이는 CH3 도메인에 있고; 돌연변이는 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있으며; 돌연변이는 각각 단일 아미노산 변화이고; 돌연변이는 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K446까지의 서열 내에 있으며; 돌연변이는 단일 아미노산 변화이고; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는: GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGS, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGSGSGSGSGSGSGTGTAGGTGSGSGTGS, AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSGGG, GGGSGGGSGGS, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGGGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지며; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 글리신 스페이서이고; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 독립적으로 4 내지 30개, 4 내지 20개, 8 내지 30개, 8 내지 20개, 12 내지 20개 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어지며; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어지고; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 넘버링 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하며, EU 넘버링 위치 I253에서의 아미노산 돌연변이는 각각 독립적으로 I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W, 및 I253Y로 이루어진 군에서 선택되고; 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A이며; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 넘버링 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하고; EU 넘버링 위치 R292에서의 아미노산 돌연변이는 각각 독립적으로 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군에서 선택되며; 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P이고; 각각의 Fc 도메인 단량체는 독립적으로 EPKSKDKTHTCPPCPAPELL 및 DKHTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산

노산 서열로 이루어지고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKHTHTCPPCPAPELL을 가지고; 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKHTHTCPPCPAPEL을 가지고; 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKSCDKHTHTCPPCPAPEL을 가지고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKHTHTCPPCPAPELL을 가지며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYHTQKSLSLSPG를 포함하며; 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되고; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하며; 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에 있는 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이고; 단일 아미노산 치환은 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있고; 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군에서 선택되며; 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R에서 선택되며; CD38 결합 도메인은 scFv이고; CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하며; CD38 결합 도메인은 VL 도메인을 추가로 포함하고; VH 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하며; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하고; VH 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하며; 항원 결합 도메인은 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하고; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트로부터 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하며; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하며; CD38 결합 도메인은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함하고; CD38 결합 도메인은 IgG CL 항체 불변 도메인 및 IgG CH1 항체 불변 도메인을 포함하며; CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하고 VL 도메인 및 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드에 결합하여 Fab를 형성할 수 있다.

[0129] 또한, 제1 또는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체의 힌지 내의 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합에 의해 연결된 상술한 폴리펩티드 중 어느 하나의 2개의 카피를 포함하는 폴리펩티드 복합체가 또한 기재되어 있다.

은 아미노산 서열 EPKSCDKTHTCPPCPAPEL을 가지고, 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPCPAPELL을 가지며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함하며; 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에 있는 역전하 돌연변이이거나 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이며; 단일 아미노산 치환은 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있고; 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, S354C, Y349T 및 T394F로 이루어진 군에서 선택되며; 2개 또는 4개의 역전하 돌연변이는 K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R에서 선택된다.

[0134] 제44 양태에서, 본 발명은 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체; 제2 링커; 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체; 임의의 제3 링커; 및 힌지 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 임의의 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 1개, 2개 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는 폴리펩티드를 특징으로 한다.

[0135] 제44 양태의 여러 구현예에서, 폴리펩티드는 항체 중쇄 가변 도메인 및 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체의 CH1 도메인 아미노 말단 또는 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체의 scFv 아미노 말단을 추가로 포함하고; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하고; 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제2 IgG 불변 도메인 단량체는 모두 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하며; 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체, 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체 각각은 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고; 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단

량체 및 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 모두, 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하며; 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 모두, 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 또는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이를 포함하며; 폴리펩티드는 제3 링커 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체를 추가로 포함하며, 제2 IgG1 Fc 도메인 단량체 및 제3 IgG1 Fc 도메인 단량체는 각각 모두, 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하고, 제1 IgG1 Fc 도메인 단량체는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 2개가 한 세트인 역전하 돌연변이 세트 또는 표 4A 및 4B에 기재된 것들에서 선택된 4개가 한 세트인 역전하 돌연변이 세트를 포함하며; 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이를 포함하는 IgG1 Fc 도메인 단량체는 동일한 CH3 도메인을 가지며; 표 4A 및 4B에서 선택된 1개, 2개, 또는 3개의 역전하 아미노산 돌연변이는 CH3 도메인에 있고; 돌연변이는 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있으며; 돌연변이는 각각 단일 아미노산 변화이고; 돌연변이는 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K446까지의 서열 내에 있으며; 돌연변이는 단일 아미노산 변화이며; 제2 링커 및 선택적인 제3 링커는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GGSG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGS, GGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGS, GGSG, GGSG, GGSGGSG, GSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGSGS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSGSGS, GGSGGSGSGS, SGGSGSGSGSGSGSGS, GSGGGSGSGSGSGS, GGGG, GGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군에서 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지며; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 글리신 스페이서이고; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 독립적으로 4 내지 30개, 4 내지 20개, 8 내지 30개, 8 내지 20개, 12 내지 20개 또는 12 내지 30개의 글리신 잔기로 이루어지며; 제2 링커 및 임의의 제3 링커는 20개의 글리신 잔기로 이루어지고; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 넘버링 위치 I253에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하며; EU 넘버링 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군에서 선택되고; 위치 I253에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 I253A이며; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 넘버링 위치 R292에서 단일 아미노산 돌연변이를 포함하고; EU 넘버링 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 독립적으로 R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군에서 선택되며; 위치 R292에서의 각각의 아미노산 돌연변이는 R292P이고; 각각의 Fc 도메인 단량체는 독립적으로 EPKCDKTHTCPPEL 및 DKTHTCPPEL로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPEL을 가지고; 제1 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 EPKCDKTHTCPPEL을 가지고; 제2 Fc 도메인 단량체 및 제3 Fc 도메인 단량체의 힌지 부분은 아미노산 서열 DKTHTCPPEL을 가지며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 독립적으로, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDVLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 결실 또는 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDVLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 2개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDVLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH2 도메인은 동일하고, 아미노산 서열 GGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDVLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로, 10개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 8개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 6개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하며; 각 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 독립적으로 5개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열

GQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG를 포함하며; 단일 아미노산 치환은 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군에서 선택되고; Fc 도메인 단량체 각각은 독립적으로 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환 중 최대 6개는 CH3 도메인에 있는 역전하 돌연변이이거나, 유전자 조작 돌출부를 형성하는 돌연변이이고; 단일 아미노산 치환은 EU 넘버링 위치 G341에서 EU 넘버링 위치 K447까지의 서열 내에 있으며; VH 도메인 또는 scFv는 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3 서열의 세트를 포함하고, VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 서열을 포함하는 VH 도메인의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하며; VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 제외한 VH 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하며; VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열을 포함하고; VH 도메인 또는 scFv는 표 1에 기재된 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열의 세트를 포함하며; VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트에서 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3 서열을 포함하고; VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 서열의 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하는 VH 도메인 및 표 2에 기재된 항체의 VL 서열의 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하는 VL 도메인을 주로 포함하되, CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2, 및 CDR-L3 서열을 제외한 VH 및 VL 도메인 서열은 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열과 적어도 95% 또는 98% 동일하며, VH 도메인 또는 scFv는 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL 서열의 세트를 포함한다.

[0136] 제41, 제42, 제43 및 제44 양태의 전술한 폴리펩티드의 어느 하나를 암호화하는 핵산 분자가 또한 기재되어 있다.

[0137] 전술한 폴리펩티드 중 어느 하나를 암호화하는 핵산을 포함하는 발현 벡터; 핵산 또는 발현 벡터를 함유하는 숙주 세포; 항체 VL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자(예를 들어, 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자)를 추가로 함유하는 숙주 세포; 항체 VL 도메인 및 항체 CL 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 함유하는 숙주 세포; 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 함유하는 숙주 세포; 10개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 암호화하는 핵산 분자를 추가로 함유하는 숙주 세포가 또한 기재되어 있다. 다양한 구현예에서, IgG1 Fc 도메인 단량체는 CH3 도메인에 10개, 8개, 6개 또는 4개 이하의 단일 아미노산 돌연변이를 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다.

[0138] 또한, 본원에 기재된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 복합체 중 어느 하나를 포함하는 약학 조성물이 기재되어 있다. 여러 구현예에서, 폴리펩티드 중 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 10% 미만, 5% 미만, 2% 미만이 적어도 하나의 푸코오스를 갖는다.

[0139] 본 발명의 제41, 제42, 제43, 및 제44 양태의 폴리펩티드는 본원에 기재된 여러 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 구성 성분으로 유용하다. 따라서, 제1 내지 제40 양태 중 어느 하나의 폴리펩티드, 예를 들어, CD38 결합 도메인을 포함할 수 있는 것들은 본 발명의 제41, 제42, 제43 및 제44 양태 중 어느 하나의 폴리펩티드를 포함하거나, 이러한 폴리펩티드로 이루어질 수 있다.

[0140] 본 발명의 모든 양태에서 사용되는 기타 유용한 폴리펩티드는(예컨대, Y407T Y407A, F405A, T394S, T394W:Y407T, T394S:Y407A, T366W:T394S, F405T, T366S:L368A:Y407V:Y349C, S364H:F405A에서 선택되는) 함몰부를 형성하는 1개, 2개, 또는 3개의 돌연변이를 갖는(예컨대, 8개, 6개, 5개, 4개, 또는 3개 이하의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지는) Fc 도메인 단량체를 포함하는 폴리펩티드를 포함한다. 이러한 폴리펩티드는 선택적으로 표 4A 및 4B에서 1개, 2개 또는 3개의 역전하 돌연변이를 포함할 수 있다.

- [0141] Fc-항원 결합 도메인 작제물이 또한 본원에 기재되어 있으며, 상기 Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0142] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- [0143] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- [0144] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
- [0145] iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0146] iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0147] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- [0148] i) 제3 Fc 도메인 단량체,
- [0149] ii) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0150] iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0151] iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0152] c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;
- [0153] d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드;
- [0154] e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드; 및
- [0155] f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,
- [0156] 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0157] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.
- [0158] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0159] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- [0160] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- [0161] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
- [0162] iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0163] iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0164] b) 하기를 포함하는 포함하는 제2 폴리펩티드:

- [0165] i) 제3 Fc 도메인 단량체,
- [0166] ii) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0167] iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0168] iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커를 포함하는 제2 폴리펩티드;
- [0169] c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드; 및
- [0170] d) 제6 Fc 도메인 단량체와 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드를 포함하며;
- [0171] 제1 및 제3 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제4 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0172] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0173] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- [0174] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- [0175] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
- [0176] iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0177] iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0178] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- [0179] i) 제3 Fc 도메인 단량체,
- [0180] ii) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0181] iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및
- [0182] iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0183] c) 제5 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;
- [0184] d) 제6 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드;
- [0185] e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드; 및
- [0186] f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,
- [0187] 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0188] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의

단일 아미노산 치환을 포함하고; 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.

- [0189] Fc-항원 결합 도메인 작제물이 또한 기재되어 있으며, 상기 Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0190] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- [0191] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- [0192] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
- [0193] iii) 제3 Fc 도메인 단량체,
- [0194] iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인,
- [0195] v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및
- [0196] vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0197] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- [0198] i) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0199] ii) 제5 Fc 도메인 단량체,
- [0200] iii) 제6 Fc 도메인 단량체,
- [0201] iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인,
- [0202] v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및
- [0203] vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0204] c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;
- [0205] d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드;
- [0206] e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드;
- [0207] f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드;
- [0208] g) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드; 및
- [0209] h) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,
- [0210] 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제5 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0211] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환

을 포함하고; 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이중이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이중이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 동중이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이중이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.

[0212] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은

[0213] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

[0214] i) 제1 Fc 도메인 단량체,

[0215] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

[0216] iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

[0217] iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인,

[0218] v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및

[0219] vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

[0220] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

[0221] i) 제4 Fc 도메인 단량체,

[0222] ii) 제5 Fc 도메인 단량체,

[0223] iii) 제6 Fc 도메인 단량체,

[0224] iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인,

[0225] v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및

[0226] vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

[0227] c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드;

[0228] d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드;

[0229] e) 제9 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드; 및

[0230] f) 제10 Fc 도메인 단량체 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,

[0231] 제1 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제4 및 제8 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제5 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.

[0232] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은

[0233] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:

[0234] i) 제1 Fc 도메인 단량체,

[0235] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,

[0236] iii) 제3 Fc 도메인 단량체,

[0237] iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인,

[0238] v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및

[0239] vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,

[0240] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:

- [0241] i) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0242] ii) 제5 Fc 도메인 단량체,
- [0243] iii) 제6 Fc 도메인 단량체,
- [0244] iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인,
- [0245] v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및
- [0246] vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0247] c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- [0248] d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- [0249] e) 제9 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제5 폴리펩티드,
- [0250] f) 제10 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제6 폴리펩티드,
- [0251] g) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드 및
- [0252] h) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,
- [0253] 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제5 및 제8 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0254] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; 제5 및 제8 Fc 도메인 단량체는 제5 및 제8 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체는 제6 및 제10 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.
- [0255] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0256] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - [0257] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
 - [0258] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
 - [0259] iii) 제3 Fc 도메인 단량체,
 - [0260] iv) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인,
 - [0261] v) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및

- [0262] vi) 제2 및 제3 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0263] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- [0264] i) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0265] ii) 제5 Fc 도메인 단량체,
- [0266] iii) 제6 Fc 도메인 단량체,
- [0267] iv) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인,
- [0268] v) 제4 및 제5 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커 및
- [0269] vi) 제5 및 제6 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0270] c) 제7 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제3 폴리펩티드,
- [0271] d) 제8 Fc 도메인 단량체를 포함하는 제4 폴리펩티드,
- [0272] e) 제9 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드 및
- [0273] f) 제10 Fc 도메인 단량체 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,
- [0274] 제1 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제2 및 제7 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제5 및 제8 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제9 Fc 도메인 단량체는 함께 제4 Fc 도메인을 형성하며, 제6 및 제10 Fc 단량체는 함께 제5 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며; 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0275] Fc-항원 결합 도메인 작제물이 또한 기재되어 있으며, 상기 Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0276] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
- [0277] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
- [0278] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
- [0279] iii) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0280] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
- [0281] i) 제3 Fc 도메인 단량체,
- [0282] ii) 제4 Fc 도메인 단량체,
- [0283] iii) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0284] c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제1 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드,
- [0285] d) 제6 Fc 도메인 단량체와 제2 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드,
- [0286] e) 제1 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드 및
- [0287] f) 제2 CD38 경쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드를 포함하며,
- [0288] 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인과 제1 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인과 제2 CD38 경쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0289] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제5 및 제6 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미

노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.

- [0290] 또한, Fc-항원 결합 도메인 작제물이 기재되며, Fc-항원 결합 도메인 작제물은
- [0291] a) 하기를 포함하는 제1 폴리펩티드:
 - [0292] i) 제1 Fc 도메인 단량체,
 - [0293] ii) 제2 Fc 도메인 단량체,
 - [0294] iii) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및
 - [0295] iv) 제1 및 제2 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0296] b) 하기를 포함하는 제2 폴리펩티드:
 - [0297] i) 제3 Fc 도메인 단량체,
 - [0298] ii) 제4 Fc 도메인 단량체,
 - [0299] iii) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및
 - [0300] iv) 제3 및 제4 Fc 도메인 단량체를 연결하는 링커,
- [0301] c) 제5 Fc 도메인 단량체와 제3 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제3 폴리펩티드,
- [0302] f) 제6 Fc 도메인 단량체와 제4 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제4 폴리펩티드,
- [0303] e) 제1 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제5 폴리펩티드,
- [0304] f) 제2 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제6 폴리펩티드,
- [0305] g) 제3 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제7 폴리펩티드 및
- [0306] h) 제4 CD38 중쇄 결합 도메인을 포함하는 제8 폴리펩티드를 포함하며,
- [0307] 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 함께 제1 Fc 도메인을 형성하고, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 함께 제2 Fc 도메인을 형성하며, 제2 및 제4 Fc 단량체는 함께 제3 Fc 도메인을 형성하고, 제1 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제3 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제1 Fab를 형성하며, 제2 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제4 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성하고, 제3 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제1 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제3 Fab를 형성하며; 제4 CD38 중쇄 결합 도메인 및 제2 CD38 중쇄 결합 도메인은 함께 제2 Fab를 형성한다.
- [0308] 다양한 구현예에서: 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 제5, 제6, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하고; 제1 및 제2 폴리펩티드는 서열이 동일하며, 제3 및 제4 폴리펩티드는 서열이 동일하고, 제5, 제6, 제7 및 제8 폴리펩티드는 서열이 동일하며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 각각의 Fc 도메인 단량체의 CH3 도메인은 인간 IgG1의 아미노산 서열과 비교하여, 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며; Fc 도메인 단량체는 각각 독립적으로, 최대 10개, 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하고; 단일 아미노산 치환은 CH3 도메인에만 있으며; 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체는 제2 및 제4 Fc 도메인 단량체 사이의 동종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체는 제1 및 제5 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하며, 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체는 제3 및 제6 Fc 도메인 단량체 사이의 이종이량체화를 촉진하는 최대 8개, 7개, 6개, 5개,

4개, 3개, 2개 또는 1개의 단일 아미노산 치환을 포함하고; 동종이량체화를 촉진하는 치환은 표 4A 및 표 4B의 치환으로부터 선택되며; 이종이량체화를 촉진하는 치환은 표 3의 치환으로부터 선택된다.

[0309] 다양한 구현예에서: 각각의 링커는GGGGGGGGGGGGGGGGGGGG, GGGGS, GSGG, SGGG, GSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSGS, GSGSGSGS, GSGSGSGSGSGS, GSGSG, GSGG, GSGG, GSGSGSG, GS, GENLYFQSGG, SACYCELS, RSIAT, RPACKIPNDLKQKVMNH, GGSAGSGSGSSGSGSAGTGTAGGTGSGSGTGSG, AAANSSIDLISVPVDSR, GSGGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSEGGSGSGGS, GGGSGGGSGGG, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG, GSGSGSGGGSGGGSGGS, GGGG, GGGGGGGG, GGGGGGGGGGGG 및 GGGGGGGGGGGGGGGGG로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어지고; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 I253에서 치환을 포함하며; EU 위치 I253에서의 각각의 아미노산 치환은 독립적으로, I253A, I253C, I253D, I253E, I253F, I253G, I253H, I253I, I253K, I253L, I253M, I253N, I253P, I253Q, I253R, I253S, I253T, I253V, I253W 및 I253Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 EU 위치 R292에서 치환을 포함하며; EU 위치 R292에서의 각각의 아미노산 치환은 독립적으로, R292D, R292E, R292L, R292P, R292Q, R292R, R292T 및 R292Y로 이루어진 군으로부터 선택되고; Fc 도메인 단량체 중 적어도 하나는 T366Y, T366W, T394W, T394Y, F405W, F405A, Y407A, S354C, Y349T, T394F, K409D, K409E, K392D, K392E, K370D, K370E, D399K, D399R, E357K, E357R, D356K 및 D356R로 이루어진 군으로부터 선택되며; 각각의 Fc 도메인 단량체의 힌지는 독립적으로, EPKSCDKTHTCPPCPAPELL 및 DKTHTCPPCPAPELL로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 이러한 아미노산 서열로 이루어진다.

[0310] 본 발명의 모든 양태에서, Fc 도메인 단량체의 일부 또는 전부(예를 들어, 10개, 8개, 6개 또는 4개 이하의 단일 아미노산 치환을(예를 들어, CH3 도메인에서만) 갖는 서열 번호 42, 43, 45 및 47 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인 단량체)는 다른 아미노산 치환 또는 변형에 더하여 E345K 및 E430G 아미노산 치환 중 하나 또는 둘 모두를 가질 수 있다. E345K 및 E430G 아미노산 치환은 Fc 도메인 다량체화를 증가시킬 수 있다.

[0311] 정의:

[0312] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "Fc 도메인 단량체"는 적어도 힌지 도메인 및 제2 및 제3 항체 불변 도메인 (C_H2 및 C_H3) 또는 이의 기능성 단편(예를 들어, 적어도 힌지 도메인 또는 이의 기능성 단편, CH2 도메인 또는 이의 기능성 단편, 및 CH3 도메인 또는 이의 기능성 단편)(예를 들어, (i) 다른 Fc 도메인 단량체와 이량체화되어 Fc 도메인을 형성할 수 있고, (ii) Fc 수용체에 결합될 수 있는 단편)을 포함하는 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. 바람직한 Fc 도메인 단량체는 아미노 말단에서 카복시 말단까지 IgG1 힌지, IgG1 CH2 도메인 및 IgG1 CH3 도메인의 적어도 일부를 포함한다. 따라서, Fc 도메인 단량체, 예컨대 인간 IgG1 Fc 도메인 단량체는 E316에서 G446 또는 K447까지, P317에서 G446 또는 K447까지, K318에서 G446 또는 K447까지, K318에서 G446 또는 K447까지, S319에서 G446 또는 K447까지, C320에서 G446 또는 K447까지, D321에서 G446 또는 K447까지, K322에서 G446 또는 K447까지, T323에서 G446 또는 K447까지, K323에서 G446 또는 K447까지, H324에서 G446 또는 K447까지, T325에서 G446 또는 K447까지, 또는 C326에서 G446 또는 K447까지 확장될 수 있다. Fc 도메인 단량체는 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD(예컨대, IgG)를 포함하는 임의의 면역글로불린 항체 동형일 수 있다. 추가로, Fc 도메인 단량체는 IgG 아형(예컨대, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)(예컨대, 인간 IgG1)일 수 있다. 인간 IgG1 Fc 도메인 단량체는 본원에 기재된 실시예에 사용된다. 인간 IgG1의 전체 힌지 도메인은 EU 넘버링 E316에서 P230 또는 L235까지 확장되고, CH2 도메인은 A231 또는 G236에서 K340까지 확장되고, CH3 도메인은 G341에서 K447까지 확장된다. 힌지 도메인의 마지막 아미노산의 위치에 대한 다른 견해가 있다. 이는 P230 또는 L235이다. 본원의 많은 예에서, CH3 도메인은 K347을 포함하지 않는다. 따라서, CH3 도메인은 G341에서 G446까지일 수 있다. 본원의 많은 예에서, 힌지 도메인은 E216 내지 L235를 포함할 수 있다. 이는, 예를 들어 힌지가 CH1 도메인 또는 CD38 결합 도메인의 카복시 말단인 경우에 해당된다. 일부 경우에, 예를 들어 힌지가 폴리펩티드의 아미노 말단에 있는 경우, EU 넘버링 221의 Asp는 Gln으로 돌연변이된다. Fc 도메인 단량체는 항원-인식 영역, 예컨대 가변 도메인 또는 상보성 결정 영역(CDR)으로 작용할 수 있는 면역글로불린의 어떤 부분도 포함하지 않는다. Fc 도메인 단량체는 Fc 도메인과 Fc 수용체 간의 상호작용을 변경하는 야생형(예컨대, 인간) Fc 도메인 단량체 서열로부터의 10개만큼의 변화(예컨대, 1~10개, 1~8개, 1~6개, 1~4개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실)를 함유할 수 있다. Fc 도메인 단량체는 Fc 도메인 단량체 간의 상호작용을 변경하는 야생형 Fc 도메인 단량체 서열로부터의 10개만큼의 변화(예컨대, 단일 아미노산 변화)(예컨대, 1~10개, 1~8개, 1~6개, 1~4개의 아미노산 치환, 첨가 또는 결실)를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 인간 IgG1 CH3 서열 GQPPEPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVNFSVMSVMEALHNHYTQKSLS

LSPG와 비교하여 CH3 도메인에는 최대 10개, 8개, 6개 또는 5개의 단일 아미노산 치환이 있다. 적합한 변화의 예는 당업계에 공지되어 있다.

- [0313] 본원에서 사용된 바와 같은, 용어 "Fc 도메인"은 Fc 수용체에 결합할 수 있는 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체를 지칭한다. 야생형 Fc 도메인에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 2개의 C_H3 항체 불변 도메인 사이의 상호작용뿐만 아니라 2개의 이량체화 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인 사이에 형성되는 하나 이상의 이황화 결합에 의해 이량체화된다.
- [0314] 본 발명에서, "Fc-항원 결합 도메인 작제물"이란 용어는 본원에 기재된 바와 같은 적어도 2개의 Fc 도메인을 형성하고 적어도 하나의 "항원 결합 도메인"을 포함하는 회합된 폴리펩티드 사슬을 지칭한다. 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 동일하거나 상이한 서열을 갖는 Fc 도메인 단량체를 포함할 수 있다. 예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 Fc 도메인을 가질 수 있고, 이 중 2개는 IgG1 또는 IgG1-유래 Fc 도메인 단량체를 포함하고, 세 번째 것은 IgG2 또는 IgG2-유래 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 또 다른 예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 3개의 Fc 도메인을 가질 수 있고, 그 중 2개는 "돌출부-함몰부 쌍"을 포함하고, 세 번째는 "돌출부-함몰부 쌍"을 포함하지 않는다. Fc 도메인은 Fc 수용체, 예컨대 Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIIb 또는 Fc γ RIV에 결합하는 최소 구조를 형성한다.
- [0315] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항원 결합 도메인"은 표적 분자에 특이적으로 결합할 수 있는 펩티드, 폴리펩티드 또는 회합된 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 구현예에서, "항원 결합 도메인"은 항체에 의해 결합된 항원에 특이적으로 결합하는 항체의 최소 서열이다. 표면 플라즈몬 공명(SPR) 또는 당업계에 공지된 다양한 면역검정, 예를 들어 웨스턴 블롯 또는 ELISA를 사용하여 항원에 대한 항체 특이성을 평가할 수 있다. 일부 구현예에서, "항원 결합 도메인"은 항체의 가변 도메인 또는 상보성 결정 영역(CDR), 예를 들어, 표 1에 기재된 항체의 하나 이상의 CDR, 표 2에 기재된 항체의 하나 이상의 CDR, 또는 표 2에 기재된 항체의 VH 및/또는 VL 도메인을 포함한다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은, 선택적으로 VL 도메인과 함께, VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함할 수 있다. 다른 구현예에서, 항원 (예를 들어, CD38) 결합 도메인은 항체의 Fab 단편 또는 scFv이다. 그러므로, CD38 결합 도메인은 VH 도메인 및 CH1 도메인을 포함하거나 이로 이루어지는 "CD38 중쇄 결합 도메인", 및 VL 도메인 및 C_L 도메인을 포함하거나 이로 이루어지는 "CD38 경쇄 결합 도메인"을 포함할 수 있다. CD38 결합 도메인은 또한 피브로넥틴 기반 결합 단백질(예를 들어, 피브로넥틴 III형 도메인(FN3) 모노바디)과 같은 표적에 특이적으로 결합하는 합성 유전자 조작 펩티드일 수 있다.
- [0316] 본원에 사용된 용어 "상보성 결정 영역"(CDR)은 CD38 결합에 필요한 항체 가변 도메인의 아미노산 잔기를 지칭한다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3, 및 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3으로 식별되는 3개의 CDR 영역을 갖는다. 각각의 상보성 결정 영역은 Kabat에 의해 정의된 "상보성 결정 영역"으로부터의 아미노산 잔기(즉, 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 24~34(CDR-L1), 50~56(CDR-L2) 및 89~97(CDR-L3) 및 중쇄 가변 도메인에서 31~35(CDR-H1), 50~65(CDR-H2) 및 95~102(CDR-H3); 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.(1991)]) 및/또는 "초가변 루프"(즉, 경쇄 가변 도메인에서 약 잔기 26~32(CDR-L1), 50~52(CDR-L2) 및 91~96(CDR-L3), 및 중쇄 가변 도메인에서 26~32(CDR-H1), 53~55(CDR-H2) 및 96~101(CDR-H3); 문헌[Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)])로부터의 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 상보성 결정 영역은 Kabat에 따라 정의된 CDR 영역 및 초가변 루프 둘 모두로부터의 아미노산을 포함할 수 있다.
- [0317] "프레임워크 영역"(이하 FR)은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 FR1, FR2, FR3 및 FR4로서 식별되는 4개의 FR을 갖는다. CDR이 Kabat에 따라 정의된 경우, 경쇄 FR 잔기는 약 잔기 1~23(LCFR1), 35~49(LCFR2), 57~88(LCFR3) 및 98~107(LCFR4)에 위치되며, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기의 약 잔기 1~30(HCFR1), 36~49(HCFR2), 66~94(HCFR3) 및 103~113(HCFR4)에 위치한다. CDR이 초가변 루프로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 경우, 경쇄 FR 잔기는 경쇄의 약 잔기 1~25(LCFR1), 33~49(LCFR2), 53~90(LCFR3) 및 97~107(LCFR4)에 위치하며, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기의 약 잔기 1~25(HCFR1), 33~52(HCFR2), 56±95(HCFR3) 및 102~113(HCFR4)에 위치한다. 일부 경우에, CDR이 Kabat에 의해 정의된 것과 같은 CDR 및 초가변 루프의 것들 모두로부터의 아미노산을 포함하는 경우, FR 잔기는 그에 따라 조정될 수 있다.
- [0318] "Fv" 단편은 완전 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 항체 단편이다. 이러한 영역은 밀접하게 회합된 하나의 중쇄 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성되며, 이는, 예를 들어, scFv에서 본질적으로 공유 결합일 수 있다. 이 구성에서 각각의 가변 도메인의 3개의 CDR은 상호작용하여 V_H-V_L 이량체의 표면 상의 CD38 결합 부위를

정의한다.

- [0319] "Fab" 단편은 경쇄의 가변 및 불변 도메인 및 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인(C_{H1})을 함유한다. F(ab')₂ 항체 단편은 일반적으로 힌지 시스템에 의해 카복실 말단 근처에 공유 결합된 한 쌍의 Fab 단편을 포함한다.
- [0320] "단일-사슬 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 사슬에 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 일반적으로, scFv 폴리펩티드는 V_H 및 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 추가로 포함하며, 이는 scFv가 CD38 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다.
- [0321] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체 불변 도메인"은 항체의 불변 영역 도메인(예를 들어, C_L 항체 불변 도메인, C_{H1} 항체 불변 도메인, C_{H2} 항체 불변 도메인 또는 C_{H3} 항체 불변 도메인)에 상응하는 폴리펩티드를 지칭한다.
- [0322] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "촉진한다"는 다른 별개의 Fc 도메인 단량체보다 서로 간에 결합 친화도가 더 높은 2개의 Fc 도메인 단량체로부터 Fc 도메인의 형성을 장려하는 것과 같이 조장하거나 장려하게 하는 것을 의미한다. 본원에 기재된 바와 같이, 결합하여 Fc 도메인을 형성하는 2개의 Fc 도메인 단량체는 그들 각자의 C_{H3} 항체 불변 도메인의 계면에서 양립성 아미노산 변형(예를 들어, 유전자 조작 돌출부 및 유전자 조작 함몰부 및/또는 정전기 스테어링 돌연변이)을 가질 수 있다. 양립성 아미노산 변형은 이러한 아미노산 변형이 결여되거나 비양립성 아미노산 변형을 갖는 다른 Fc 도메인 단량체와 비교하여 이러한 Fc 도메인 단량체의 서로 간의 선택적 상호작용을 촉진하거나 장려한다. 이는 2개의 상호작용하는 CH₃ 항체 불변 도메인의 계면에서의 아미노산 변형으로 인해, 아미노산 변형이 결여된 다른 Fc 도메인 단량체보다 서로를 향해 더 높은 친화도를 갖는 Fc 도메인 단량체 때문에 발생한다.
- [0323] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이량체화 선택성 모듈"은 2개의 Fc 도메인 단량체 간의 장려되는 페어링을 용이하게 하는 Fc 도메인 단량체의 서열을 지칭한다. "상보적" 이량체화 선택성 모듈은 2개의 Fc 도메인 단량체의 서로 간의 선택적 상호작용을 촉진하거나 장려하는 이량체화 선택성 모듈이다. 상보적 이량체화 선택성 모듈은 동일하거나 상이한 서열을 가질 수 있다. 예시적인 상보적 이량체화 선택성 모듈이 본원에 기재되어 있다.
- [0324] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "유전자 조작 함몰부"는 상이한 아미노산 잔기가 원래의 아미노산 잔기보다 더 작은 측쇄 체적을 가져 CH₃ 항체 불변 도메인에 3차원 함몰부를 생성하는 CH₃ 항체 불변 도메인에 있는 원래의 아미노산 잔기 중 적어도 하나의 치환을 지칭한다. "원래의 아미노산 잔기"라는 용어는 야생형 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전 암호에 의해 암호화된 자연 발생 아미노산 잔기를 지칭한다.
- [0325] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "유전자 조작 돌출부"는 원래의 아미노산 잔기보다 더 큰 측쇄 체적을 갖는 상이한 아미노산 잔기를 가진 CH₃ 항체 불변 도메인에 있는 원래의 아미노산 잔기 중 적어도 하나의 치환을 지칭하며, 따라서 CH₃ 항체 불변 도메인에 3차원 돌출부를 생성한다. "원래의 아미노산 잔기"라는 용어는 야생형 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전 암호에 의해 암호화된 자연 발생 아미노산 잔기를 지칭한다.
- [0326] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "돌출부-함몰부 쌍"은 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함하는 Fc 도메인을 설명하되, 제1 Fc 도메인 단량체는 이의 CH₃ 항체 불변 도메인에 유전자 조작 함몰부를 포함하는 반면, 제2 Fc 도메인 단량체는 이의 CH₃ 항체 불변 도메인에 유전자 조작 돌출부를 포함한다. 돌출부-함몰부 쌍에서, 제1 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인에 있는 유전자 조작 돌출부는 CH₃ 항체 불변 도메인간 계면에서 이량체의 정상 회합을 유의미하게 교란시키지 않으면서 제2 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부와 상호작용하도록 위치된다.
- [0327] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "이종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 이종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이들 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 형성을 촉진하는 상이한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 4A 및 표 4B의 돌연변이 참조)를 함유한다. 3개의 Fc 도메인, 즉 1개의 카복실 말단 "줄기" Fc 도메인 및 2개의 아미노 말단 "분지" Fc 도메인을 갖는 Fc 작제물에서, 아미노 말단 "분지" Fc 도메인 각각은 이종이량체 Fc 도메인("분지 이종이량체 Fc 도메인"이라고도 함)일 수 있다.
- [0328] Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단과 관련하여 본원에 사용된 용어 "구조적으로 동일한"은 동일한 비율과 구성의 동일한 폴리펩티드 서열의 조립인 작제물을 지칭하며, 글리코실화와 같은 임의의 번역후 변형을 지칭하지 않

는다.

- [0329] 본원에 사용된 용어 "동종이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체가 동일한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 5 및 표 6의 돌연변이 참조)를 함유하는, 2개의 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭한다. 3개의 Fc 도메인, 즉 1개의 카복실 말단 "줄기" Fc 도메인 및 2개의 아미노 말단 "분지" Fc 도메인을 갖는 Fc 작제물에서, 카복시 말단 "줄기" Fc 도메인은 동종이량체 Fc 도메인("줄기 동종이량체 Fc 도메인"이라고도 함)일 수 있다.
- [0330] 본원에 사용된 용어 "이종이량체화 선택성 모듈"은 양립성 이종이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 이종이량체화를 촉진하기 위해 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인에서 이루어질 수 있는 유전자 조작 돌출부, 유전자 조작 함몰부, 및 특정 역전하 아미노산 치환을 지칭한다. 이종이량체화 선택성 모듈을 함유하는 Fc 도메인 단량체는 결합하여 이종이량체 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 이종이량체화 선택성 모듈의 예는 표 3 및 표 4에 도시되어 있다.
- [0331] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "동종이량체화 선택성 모듈"은 동종이량체 Fc 도메인을 형성하도록 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화를 촉진하는 CH₃ 도메인 사이의 계면에서 하전 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치의 Fc 도메인 단량체의 역전하 돌연변이를 지칭한다. 동종이량체화 선택성 모듈의 예는 표 4 및 표 5에 도시되어 있다.
- [0332] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "연결된(joined)"은 화학적 접합, 재조합 수단 및 화학 결합(예컨대, 이황화 결합 및 아미드 결합)을 포함하는 수단에 의한 둘 이상의 요소, 성분, 또는 단백질 도메인(예컨대, 폴리펩티드)의 조합 또는 부착을 설명하기 위해 사용된다. 예를 들어, 2개의 단일 폴리펩티드는 화학적 접합, 화학 결합, 펩티드 링커 또는 공유 결합의 임의의 다른 수단을 통해 연결되어 하나의 연속 단백질 구조를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 CD38 결합 도메인 및 Fc 도메인 단량체 모두를 암호화하는 인접한 핵산 서열로부터 발현됨으로써 Fc 도메인 단량체에 연결된다. 다른 구현예에서, CD38 결합 도메인은 펩티드 링커를 통해 Fc 도메인 단량체에 연결되며, 펩티드 링커의 N-말단은 화학 결합, 예를 들어, 펩티드 결합을 통해 CD38 결합 도메인의 C-말단에 연결되고, 펩티드 링커의 C-말단은 화학 결합, 예를 들어 펩티드 결합을 통해 Fc 도메인 단량체의 N-말단에 연결된다.
- [0333] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "회합된(associated)"은 폴리펩티드(또는 하나의 단일 폴리펩티드 내의 서열)가 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)을 형성하도록 위치되게 하는 폴리펩티드(또는 하나의 단일 폴리펩티드 내의 서열) 사이의 상호작용, 예를 들어 수소 결합, 소수성 상호작용 또는 이온성 상호작용을 기재하는 데 사용된다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 4개의 폴리펩티드, 예를 들어 2개의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하는 2개의 폴리펩티드 및 하나의 Fc 도메인 단량체를 각각 포함하는 2개의 폴리펩티드는 회합되어 (예를 들어, 도 50 및 도 51에 도시된 바와 같은) 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc 작제물을 형성한다. 4개의 폴리펩티드는 이들 각자의 Fc 도메인 단량체를 통해 회합할 수 있다. 폴리펩티드 사이의 회합은 공유 상호작용을 포함하지 않는다.
- [0334] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "링커"는 2개의 요소, 예를 들어 단백질 도메인 사이의 연결을 지칭한다. 링커는 공유 결합 또는 스페이서일 수 있다. "결합"이라는 용어는 화학 결합, 예컨대, 아미드 결합 또는 이황화 결합, 또는 화학 반응에 의해 생성된 임의의 종류의 결합, 예컨대, 화학적 접합을 지칭한다. "스페이서"라는 용어는 2개의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인 사이에 공간 및/또는 가요성을 제공하기 위해 2개의 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인 사이에 발생하는 모이어티(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 중합체) 또는 아미노산 서열(예를 들어, 3~200개의 아미노산, 3~150개의 아미노산 또는 3~100개의 아미노산 서열)을 지칭한다. 아미노산 스페이서는 (예를 들어, 폴리펩티드 골격을 통해 이격된 폴리펩티드 또는 폴리펩티드 도메인에 연결된) 폴리펩티드의 1차 서열의 부분이다. 예를 들어, Fc 도메인을 형성하는 2개의 힌지 영역 또는 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 이황화 결합의 형성은 링커로 간주되지 않는다.
- [0335] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "글리신 스페이서"는 2개의 Fc 도메인 단량체를 직렬로 결합시키는 글리신만을 함유하는 링커를 지칭한다. 글리신 스페이서는 적어도 4, 8 또는 12개의 글리신(예를 들어, 4~30, 8~30 또는 12~30개의 글리신; 예를 들어, 12~30개, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 글리신)을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 글리신 스페이서는 GGGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 27)의 서열을 갖는다.
- [0336] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "알부민-결합 펩티드"는 혈청 알부민에 대한 친화도를 가지며, 이에 결합하도록

록 기능하는 12 내지 16개의 아미노산으로 이루어진 아미노산 서열을 지칭한다. 알부민-결합 펩티드는 상이한 기원, 예를 들어 인간, 마우스 또는 쥐의 것일 수 있다. 본 개시 내용의 일부 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 Fc 도메인 단량체의 C-말단에 융합되어 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 혈청 반감기를 증가시킨다. 알부민-결합 펩티드는 직접 또는 링커를 통해, Fc 도메인 단량체의 N-말단 또는 C-말단에 융합될 수 있다.

- [0337] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "정제 펩티드"는 폴리펩티드의 정제, 단리 또는 동정에 사용될 수 있는 임의의 길이의 펩티드를 지칭한다. 정제 펩티드는, 예를 들어 세포 용해 혼합물로부터 폴리펩티드를 정제하고/하거나 폴리펩티드를 단리하는 것을 돕기 위해 폴리펩티드에 연결될 수 있다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드는 정제 펩티드에 특이적 친화도를 갖는 다른 모이어티에 결합한다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드에 특이적으로 결합하는 이러한 모이어티는 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드와 같은 고정 지지체에 부착된다. Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있는 정제 펩티드의 예는 본원에서 추가로 상세하게 기재된다.
- [0338] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "다량체"는 본원에 기재된 적어도 2개의 회합된 Fc 작제물 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 포함하는 분자를 지칭한다.
- [0339] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "폴리뉴클레오티드"는 올리고뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드, 및 이의 단편 또는 일부를 지칭하며, 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있고 센스 가닥 또는 안티-센스 가닥을 나타낼 수 있는 게놈 기원 또는 합성 기원의 DNA 또는 RNA를 지칭한다. 단일 폴리뉴클레오티드는 단일 폴리펩티드로 번역된다.
- [0340] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩티드"는 단량체가 아미드 결합을 통해 서로 연결되는 아미노산 잔기인 단일 중합체를 말한다. 폴리펩티드는 자연 발생, 재조합 또는 합성에 의해 생성된 임의의 아미노산 서열을 포함하도록 의도된다.
- [0341] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산 위치"는 단백질 또는 단백질 도메인에서 아미노산의 위치 번호를 지칭한다. 아미노산 위치는 표시된 경우 (예를 들어, CDR 및 FR 영역) Kabat 넘버링 시스템(Kabat 등의 문헌 [*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institutes of Health, Bethesda, Md., ed 5, 1991])을 사용하여 넘버링되며, 그렇지 않으면 EU 넘버링이 사용된다.
- [0342] 도 24a 내지 도 24d는 EU 넘버링 시스템을 사용하여 넘버링된 인간 IgG1 Fc 도메인을 도시한다.
- [0343] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "아미노산 변형"은 기준 서열(예를 들어, 야생형, 비돌연변이 또는 비변형 Fc 서열)과 비교하여, 약물동력학(PK) 및/또는 약물력학(PD) 특성, 혈청 반감기, 효과기 기능(예를 들어, 세포 용해(예를 들어, 항체 의존성 세포-매개 독성(ADCC) 및/또는 보체 의존성 세포독성 활성화(CDC)), 식균작용(예를 들어, 항체 의존성 세포성 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포성 세포독성(CDCC)), 면역 활성화 및 T-세포 활성화), Fc 리포터(예를 들어, Fc-감마 수용체(Fc γ R)(예를 들어, Fc γ RI(CD64), Fc γ RIIA(CD32), Fc γ RIIB(CD32), Fc γ RIIIA(CD16a) 및/또는 Fc γ RIIIB(CD16b)), Fc-알파 리포터(Fc α R), Fc-엡실론 수용체(Fc ϵ R) 및/또는 신생아의 Fc 수용체(FcRn)에 대한 친화도, 보체 연쇄반응(complement cascade)(예를 들어, C1q)에 관여하는 단백질에 대한 친화도, 번역후 변형(예를 들어, 글리코실화, 시알산화), 응집 특성(예를 들어, 이량체(예를 들어, 동중이량체 및/또는 이종이량체) 및/또는 다량체를 형성하는 능력) 및 (예를 들어, C_{H1} 및 C_L 사이의 상호작용을 변경하고, 안정성을 변경하고/하거나 온도 및/또는 pH에 대한 감수성을 변경하는) Fc 작제물의 생물물리학적 특성에 영향을 끼칠 수 있고, 면역성 질환 및 염증성 질환의 치료 효능 개선을 촉진시킬 수 있는 Fc 도메인 폴리펩티드 서열의 변경을 지칭한다. 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 포함한다. 일부 구현예에서, 아미노산 변형은 단일 아미노산의 변형이다. 다른 구현예에서, 아미노산 변형은 다수의(예컨대, 하나 초과) 아미노산의 변형이다. 아미노산 변형은 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입의 조합을 포함할 수 있다. 아미노산 변형의 기술에는 Fc 폴리펩티드를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 점 돌연변이(예를 들어, 단일 뉴클레오티드를 다른 것과 교환하는 것)와 같은 유전적(즉, DNA 및 RNA) 변경, 삽입 및 결실(예를 들어, 하나 이상의 뉴클레오티드의 첨가 및/또는 제거)이 포함된다.
- [0344] 특정 구현예에서, Fc 작제물 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 적어도 하나의(예를 들어, 1, 2 또는 3개) Fc 도메인 단량체는 아미노산 변형(예를 들어, 치환)을 포함한다. 일부 경우에, 적어도 하나의 Fc 도메인 단량체는 하나 이상의(예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 또는 20개 이하) 아미노산 변형들(예를 들어, 치환들)을 포함한다.
- [0345] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "퍼센트(%) 동일성"은, 필요한 경우, 최대 % 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 갭(gap)을 도입한(즉, 갭은 최적의 정렬을 위해 후보 및 참조 서열 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있으며, 비상동 서열은 비교를 위해 무시할 수 있음) 후에 기준 서열, 예를 들어, 야생형 Fc 도메인 단량체의

서열의 아미노산(또는 핵산) 잔기와 동일한 후보 서열, 예를 들어 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 Fc 도메인 단량체의 서열의 아미노산(또는 핵산) 잔기의 백분율을 지칭한다. % 동일성을 결정하기 위한 정렬은 당업계에서 기술 내에 있는 다양한 방법, 예를 들어 BLAST, ALIGN 또는 Megalign(DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 포함하여, 정렬을 측정하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 일부 구현예에서, 주어진 기준 서열에 대한, 이에 대해 또는 이와 비교하여 주어진 후보 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성(이는 특정 % 아미노산(또는 핵산)을 갖거나 포함하는 주어진 후보 서열로 대안적으로 표현될 수 있음)은 다음과 같이 계산된다:

[0346] $100 \times (A/B \text{의 분수})$

[0347] 여기서, A는 후보 서열 및 기준 서열의 정렬에서 동일한 것으로 점수가 부여된 아미노산(또는 핵산) 잔기의 수이고, B는 기준 서열에 있는 아미노산(또는 핵산) 잔기의 총 수이다. 후보 서열의 길이가 기준 서열의 길이와 동일하지 않은 일부 구현예에서, 기준 서열에 대한 후보 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성은 후보 서열에 대한 기준 서열의 % 아미노산(또는 핵산) 서열 동일성과 동일하지 않을 것이다.

[0348] 특정 구현예에서, 후보 서열과 비교하여 정렬된 기준 서열은 후보 서열의 전체 길이 또는 후보 서열의 인접한 아미노산(또는 핵산) 잔기의 선택된 부분에 걸쳐서 후보 서열이 50% 내지 100%의 동일성(예컨대, 50% 내지 100%, 60% 내지 100%, 70% 내지 100%, 80% 내지 100%, 90% 내지 100%, 92% 내지 100%, 95% 내지 100%, 97% 내지 100%, 99% 내지 100%, 또는 99.5% 내지 100%의 동일성)을 보임을 나타낼 수 있다. 비교를 위해 정렬된 후보 서열의 길이는 기준 서열 길이의 적어도 30%, 예컨대, 적어도 40%, 예컨대, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 또는 100%이다. 후보 서열에서의 위치를 기준 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 아미노산(또는 핵산) 잔기가 차지할 때, 분자는 해당 위치에서 동일하다.

[0349] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 야생형 Fc 도메인 단량체의 서열(예를 들어, 서열번호 42)에 적어도 95% 동일한(적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 서열번호 44, 46, 48 및 50-53 중 어느 하나의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, Fc 작제물 내의 Fc 도메인 단량체는 서열번호 48, 52 및 53의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0350] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 본원에 추가로 기재된 서열번호 1-36(예를 들어, 서열번호 17, 18, 26 및 27) 중 어느 하나의 서열에 적어도 75% 동일한(적어도 75%, 77%, 79%, 81%, 83%, 85%, 87%, 89%, 91%, 93%, 95%, 97%, 99%, 99.5% 또는 100% 동일한) 서열을 가질 수 있다.

[0351] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "숙주 세포"는 필요한 세포 성분, 예컨대, 그의 상응하는 핵산에서부터 단백질을 발현하는 데 필요한 세포 기관을 포함하는 비히클(vehicle)을 지칭한다. 핵산은 전형적으로 당업계에 공지된 종래 기술(형질전환, 형질감염, 전기 친공법, 인산칼슘 침전, 직접 미세주입(direct microinjection) 등)에 의해 숙주 세포에 도입될 수 있는 핵산 벡터에 포함된다. 숙주 세포는 원핵 세포(예를 들어, 세균 세포) 또는 진핵 세포(예를 들어, CHO 세포와 같은 포유류 세포)일 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 숙주 세포를 사용하여 원하는 도메인을 암호화하는 하나 이상의 폴리펩티드를 발현하며, 이는 이어서 결합하여 원하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 형성할 수 있다.

[0352] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학 조성물"은 유효 성분뿐만 아니라 유효 성분을 투여 방법에 적합하게 만들 수 있는 하나 이상의 부형제 및 희석제를 함유하는 의약 또는 약학 제형을 지칭한다. 본 개시 내용의 약학 조성물은 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 양립 가능한, 약학적으로 허용 가능한 성분을 포함한다. 일반적으로, 약학 조성물은 정맥내 또는 피하 투여를 위한 수성 형태이다.

[0353] 본원에서 사용된 바와 같이, 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 "실질적으로 균질한 집단"은, 비환원 SDS 겔 전기영동 또는 크기 배제 크로마토그래피로 결정시, 조성물(예를 들어, 세포 배양 배지 또는 약학 조성물) 내 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 적어도 50%가 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는 것이다. 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 실질적으로 균질한 집단은 정제 전에, 또는 단백질 A 또는 단백질 G 정제 후에, 또는 임의의 Fab 또는 Fc-특이적 친화도 크로마토그래피 후에만 수득될 수 있다. 다양한 구현예에서, 조성물에서의 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 적어도 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% 또는 85%는 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는다. 다른 구현예에서, 조성물

에서의 폴리펩티드 또는 Fc 작제물의 최대 85%, 90%, 92% 또는 95%는 동일한 수의 Fc 도메인을 갖는다.

[0354] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "약학적으로 허용 가능한 담체"는 약학 조성물 중의 부형제 또는 희석제를 지칭한다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 제형의 다른 성분과 양립 가능해야 하고 피투여자에게 해롭지 않아야 한다. 본 발명에서, 약학적으로 허용 가능한 담체는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 적절한 약학적 안정성을 제공해야 한다. 담체의 특성은 투여 방식에 따라 다르다. 예를 들어, 경구 투여에서는 고형 담체가 바람직하고, 정맥내 투여에서는 수용액 담체(예를 들어, WFI 및/또는 완충액)가 일반적으로 사용된다.

[0355] 본원에서 사용된 "치료 유효량"은 대상 또는 환자에서 원하는 생물학적 효과를 유도하거나 본원에 기재된 질병 또는 장애를 갖는 환자를 치료하는 데 효과적인 약학적 투여량과 같은 양을 지칭한다. 또한 본원에서 "치료 유효량"은 1회 투여량으로 또는 임의의 용량 또는 경로로 섭취되거나 단독으로 또는 다른 치료제와 병용하여 섭취되어 원하는 치료 효과를 제공하는 양으로 해석될 수 있음이 이해되어야 한다.

[0356] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 단편 및 용어 부분은 상호 교환 가능하게 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0357] 도 1은 2개의 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 1)을 도시한다. 각각의 Fc 도메인은 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체이다. Fc 도메인 단량체 중 2개(106 및 108)는 그의 CH₃ 항체 불변 도메인의 돌출부를 함유하는 반면, Fc 도메인 단량체의 다른 2개(112 및 114)는 그의 CH₃ 항체 불변 도메인의 병렬 위치에 함몰부를 함유한다. 이 작제물은 3개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(102)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(110)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 2개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(106 및 108)를 함유한다. V_L 함유 도메인(104)은 V_H 도메인에 연결된다. 제2 및 제3 폴리펩티드(112 및 114) 각각은 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다.

도 2는 3개의 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 2)을 도시한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(202)는 N-말단에서 V_H 도메인(212)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 스페이서에 의해 직렬로 연결된 3개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(206, 208 및 210)를 함유한다. V_L 함유 도메인(204)은 V_H 도메인에 연결된다. 제2, 제3, 및 제4 폴리펩티드(214, 216, 및 218) 각각은 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다.

도 3은 2개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 3)을 도시한다. 이 작제물은 3개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(302)는 직렬로 스페이서에 의해 연결된 2개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(304 및 306)를 함유한다. 제2 및 제3 폴리펩티드(320 및 322) 각각은 N-말단에 V_H 도메인(316 및 318)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(310 및 314)를 함유한다. V_L 함유 도메인(308 및 312)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 4는 3개의 Fc 도메인 및 3개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 4)을 도시한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(402)는 직렬로 스페이서에 의해 연결된 3개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(404, 406 및 408)를 함유한다. 제2, 제3 및 제4 폴리펩티드(428, 430 및 432) 각각은 N-말단에 V_H 도메인(422, 416 및 410)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(426, 420 및 414)를 함유한다. V_L 함유 도메인(424, 418, 및 412)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 5는 2개의 Fc 도메인 및 3개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 5)을 도시한다. 이 작제물은 3개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(502)는 N-말단에서 V_H 도메인(510)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 스페이서에 의해 직렬로 연결된 2개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(508 및 506)를 함유한다. 제2 및 제3 폴리펩티드(524 및 526) 각각은 N-말단에서 V_H 도메인(512 및 518)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(516 및 522)를 함유한다. V_L 함유 도메인(504, 514, 및 520)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 6은 3개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 6)을 도시

한다. 이 작제물은 4개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 제1 폴리펩티드(602)는 N-말단에서 V_H 도메인(612)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 스페이서에 의해 직렬로 연결된 3개의 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(606, 608 및 610)를 함유한다. 제2, 제3, 및 제4 폴리펩티드(632, 634, 및 636)는 N-말단에 V_H 도메인을 포함하는 CD38 결합 도메인(616, 622, 및 628)과 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(618, 624, 및 630)를 함유한다. V_L 함유 도메인(604, 616, 622, 및 628)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 7은 3개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 7)을 도시한다. 본 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 2개의 Fc 도메인 단량체(706 및 718)의 이량체를 함유하되, Fc 도메인 단량체 둘 모두는 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 유리한 정전기적 상호작용을 촉진하는 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 이의 CH_3-CH_3 계면에 함유한다. 이 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(702 및 724)는 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH_3-CH_3 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(706 및 718) 및 N-말단 상에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(712 및 714)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(710 및 720)를 각각 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(708 및 722)는 각각 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다. V_L 함유 도메인(704 및 716)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 8은 3개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 8)을 도시한다. 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(802 및 828) WT 서열과 다른 하전 아미노산을 CH_3-CH_3 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(810 및 816)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(814 및 820)를 각각 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(804 및 826) 각각은 N-말단에서 V_H 도메인(812 및 818)을 함유하는 CD38 결합 도메인에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(808 및 824)를 함유한다. V_L 함유 도메인(806 및 822)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 9는 3개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 9)의 예시이다. 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(902 및 936)는 WT 서열과 다른 하전 아미노산을 CH_3-CH_3 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(910 및 924) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(908 및 920)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(918 및 928)를 각각 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(904 및 934)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(912 및 926)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(916 및 932)를 함유한다. V_L 함유 도메인(906, 914, 922, 및 930)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 10은 5개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 10)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1002 및 1032)는 다른 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1014 및 1028), WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH_3-CH_3 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1008 및 1022) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1006 및 1018)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1016 및 1030)를 각각 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1012, 1010, 1026 및 1024)는 각각 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다. V_L 함유 도메인(1004 및 1020)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 11은 5개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 11)의 예시이다. 이 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1102 및 1148)는 다른 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1120 및 1130) 및 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH_3-CH_3 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1124 및 1126)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1118 및 1132)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1106, 1104, 1144 및 1146)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1112, 1122, 1138 및 1128)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1116, 1110, 1134 및 1140)를 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(1108, 1114, 1135, 및 1142)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 12는 5개의 Fc 도메인 및 6개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 12)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1202 및 1256)는 다

른 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1226 및 1228), WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1210 및 1244), 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1250 및 1248)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1224 및 1230)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1206, 1204, 1254 및 1252)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1218, 1212, 1236 및 1242)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1222, 1216, 1232 및 1238)를 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(1208, 1214, 1220, 1234, 1240 및 1246)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 13은 3개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 13)의 예시이다. 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1302 및 1324)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1312 및 1316) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 항원 결합 도메인(1310 및 1314)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1308 및 1318)를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(1306 및 1320)는 각각 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다. V_L 함유 도메인(1304 및 1322)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 14는 3개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 14)의 예시이다. 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1404 및 1426)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1414 및 1418)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1308 및 1318)를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(1402 및 1428)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1408 및 1416)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1410 및 1422)를 함유한다. V_L 함유 도메인(1406 및 1424)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 15는 3개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 15)의 예시이다. 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1502 및 1536)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1518 및 1522) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1514 및 1532)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1512 및 1524)를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(1504 및 1534)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1508 및 1530)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1510 및 1526)를 함유한다. V_L 함유 도메인(1506, 1516, 1520, 및 1528)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 16은 5개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 16)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1602 및 1632)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1612 및 1622), 제2 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1614 및 1620) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1616 및 1618)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1610 및 1624)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1608, 1606, 1626 및 1628)는 함몰부-함유 Fc 도메인을 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(1604 및 1630)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 17은 5개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 17)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1702 및 1748)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1720 및 1730) 및 N-말단에 제2 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1722 및 1728)에 직렬로 스페이서에 의해 연결된 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1718 및 1732)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1706, 1704, 1746 및 1744)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1712, 1724, 1738 및 1726)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1716, 1710, 1734 및 1740)를 함유한다. V_L 함유 도메인(1708, 1714, 1736 및 1742)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 18은 5개의 Fc 도메인 및 6개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 18)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1802 및 1856)는 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1820 및 1836), 제2 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1822 및 1834), 및 N-말단에 V_H

도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1826 및 1830)에 스페이스에 의해 직렬로 연결되고 WT 서열과 다른 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(1818 및 1838)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(1806, 1804, 1854 및 1852)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1812, 1828, 1844 및 1850)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(1816, 1810, 1840 및 1846)를 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(1808, 1814, 1824, 1832, 1842, 및 1848)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 19는 5개의 Fc 도메인 및 2개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 19)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(1902 및 1932)는 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 포함하는 Fc 도메인 단량체(1908 및 1926), 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1916 및 1918) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(1914 및 1920)에 직렬로 스페이스에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(1912 및 1930)를 함유한다. 제3 및 제4 폴리펩티드(1910 및 1928)는 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유하고, 제5 및 제6 폴리펩티드(1906 및 1924)는 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체를 함유한다. V_L 함유 도메인(1904 및 1922)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 20은 5개의 Fc 도메인 및 4개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 20)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(2002 및 2048)는 WT 서열과 상이한 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 함유하는 Fc 도메인 단량체(2012 및 2030) 및 N-말단에 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(2040 및 2038)에 직렬로 스페이스에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(2020 및 2022)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(2006, 2004, 2046 및 2044)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(2014, 2042, 2028 및 2036)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(2018, 2010, 2024 및 2032)를 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(2008, 2016, 2026, 및 2034)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 21은 5개의 Fc 도메인 및 6개의 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(작제물 21)의 예시이다. 작제물은 6개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드로 형성된다. 2개의 폴리펩티드(2102 및 2156)는 WT 서열과 다른 하전 아미노산을 CH₃-CH₃ 계면에서 포함하는 Fc 도메인 단량체(2112 및 2130), 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(2144 및 2142) 및 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(2148 및 2138)에 직렬로 스페이스에 의해 연결된 돌출부-함유 Fc 도메인 단량체(2120 및 2122)를 함유한다. 제3, 제4, 제5 및 제6 폴리펩티드(2106, 2104, 2154 및 2152)는 N-말단에 V_H 도메인을 함유하는 CD38 결합 도메인(2114, 2150, 2128 및 2136)에 직렬로 연결된 함몰부-함유 Fc 도메인 단량체(2118, 2110, 2124 및 2132)를 각각 함유한다. V_L 함유 도메인(2108, 2116, 2126, 2134, 2140 및 2146)은 각각의 V_H 도메인에 연결된다.

도 22는 B 세포를 표적으로 하는 다양한 항-CD20 작제물을 사용한 CDC, ADCP 및 ADCC 분석의 결과를 보여주는 3개의 그래프이다. 첫 번째 그래프는 S3Y Fc-항원 결합 도메인 작제물이 CDC를 매개할 수 있음을 보여준다. 중간 그래프는 SAI 및 S3Y Fc-항원 결합 도메인 작제물 둘 모두가 ADCP Fc γRIIa 리포터 분석에서 100 배 초과 강화된 효능을 나타냄을 보여준다. 세 번째 그래프는 SAI 및 S3Y Fc-항원 결합 도메인 작제물이 푸코실화 mAb에 비해 강화된 ADCC 활성을 탈푸코실화 mAb와 유사한 활성을 나타냄을 보여준다.

도 23은 CD38 결합 도메인이 Fc 작제물의 Fc 도메인에 연결될 수 있는 3개의 예시적인 방법의 개략도이다. 패널 A는 CD38 결합 도메인의 중쇄 성분은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있고, 경쇄 성분은 별도의 폴리펩티드로 발현될 수 있음을 보여준다. 패널 B는 Fc 장쇄의 융합 단백질로 발현된 scFv를 보여준다. 패널 C는 별도로 발현되고 외적으로 첨가되어, 화학 결합으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결되는 중쇄 및 경쇄 성분을 보여준다.

도 24a는 EU 넘버링과 함께 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 43)을 도시한다. 힌지 영역은 이중 밀줄이 표시되어 있고, CH2 도메인은 밀줄이 표시되어 있지 않고, CH3 영역은 밀줄이 표시되어 있다.

도 24b는 EU 넘버링과 함께 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 45)을 도시한다. E216에서 C220까지가 없는 힌지 영역은 이중 밀줄이 표시되어 있고, CH2 도메인은 밀줄이 표시되어 있지 않고, CH3 영역은 밀줄이 표시되어 있고 K447이 없다.

도 24c는 EU 넘버링과 함께 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 47)을 도시한다. 힌지 영역은 이중 밑줄이 표시되어 있고, CH2 도메인은 밑줄이 표시되어 있지 않고, CH3 영역은 밑줄이 표시되어 있고 447K가 없다.

도 24d는 EU 넘버링과 함께 인간 IgG1의 아미노산 서열(서열 번호 42)을 도시한다. E216-C220이 결여된 힌지 영역은 이중 밑줄로 표시되며, CH2 도메인은 밑줄로 표시되지 않고, CH3 영역은 밑줄로 표시된다.

도 25는 다중 혈액학적 종양 세포주 중에서 상대적으로 높은, 중간 정도의 그리고 낮은 세포 표면 CD38 발현을 나타내는 항-CD38 항체의 용량 의존성 결합에 대한 분석 결과를 도시한다. 살아있는 세포 표면 CD38에 결합하는 VivoTag645-표지된 항-CD38 항체. 세포 표면 결합은 FACS 분석에 의해 평가하였다.

도 26은 항-CD38 작제물이 인간 및 사이노 CD38과 교차 반응하는 IgG1 항-CD38 항체와 유사한 세포 결합 프로파일을 갖는 것을 나타내는 분석 결과를 도시한다. (A) 4°C에서 1시간 동안 Raji 종양 세포를 발현하는 인간 CD38을 VivoTag645-표지된 항체, S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb), S3Y-AA-사이노-CD38(사이노 CD38 Fab가 있는 작제물 13), 항-CD38 mAb, S3Y-AA-CD38(항-CD38 Fab가 있는 작제물 13), IgG 동형 대조군 및 SIF1 대조군(Fc 영역이 없는 Fab 영역)과 함께 인큐베이션하였다. 세포 표면 결합의 정도를 유세포 분석에 의해 평가하였다. (B) 4°C에서 1시간 동안 사이노 CD38을 안정적으로 발현하는 CHO 세포를 수확하고, VivoTag645-표지된 항체, S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb), S3Y-AA-사이노-CD38(사이노 CD38 Fab가 있는 작제물 13), 항-CD38 mAb, S3Y-AA-CD38(항-CD38 Fab가 있는 작제물 13), IgG 동형 대조군 및 SIF1 대조군(Fc 영역이 없는 Fc 삼량체)과 함께 인큐베이션하였다. 세포 표면 결합의 정도를 유세포 분석에 의해 평가하였다. 주: 항-사이노 CD38 mAb 교차 반응성 항체(S1A-AA-사이노) 및 S3Y-AA-사이노는 인간 및 사이노 CD38을 모두 인식한다. 또한, S3Y-AA-사이노 CD38은 S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb)보다 세포 표면 CD38에 더 잘 결합한다.

도 27은 Daudi 세포 및 Raji 세포에서 항-CD38 작제물에 의한 CDC 활성에 대한 평가의 결과를 도시한다.

도 28은 인간 전혈에서 항-CD38 작제물에 의한 종양 세포 사멸에 대한 평가의 결과를 도시한다. 항-CD38 작제물 13(S3Y-AA-CD38)은 인간 전혈에서 매우 강력한 종양 세포 사멸 능력을 보여준다. (A) 인간 전혈에서 Daudi-루시페라제 종양 세포의 사멸에 대한 항-CD38 mAb 및 S3Y-AA-CD38의 효과. (A) 인간 전혈에서 종양 세포의 사멸에 대한 항-CD38 mAb 및 S3Y-AA-CD38의 효과. (A) 및 (B) 모두에서, 루시페린 기질을 첨가하고 광도계에서 발광을 측정하여 살아있는 Daudi-루시페라제 세포를 정량화하였다. 자발적 용해 제어군(0% 세포 용해)(항체 첨가 없음) 및 총 용해 제어군(100% 세포 용해)과 함께 시험 샘플의 발광 값을 정규화하여 % 세포 사멸을 계산하였다. 표는 3명의 개별 인간 공여자로부터의 전혈로부터의 종양 세포 사멸 EC50 값 비교를 보여준다. 값은 평균 ± SD를 나타낸다.

도 29는 사이노몰구스 원숭이 혈액에서 내인성 B 세포 고갈에 대한 평가 결과를 도시한다. (A) 사이노 B 세포에 대한 S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb), S3Y-AA-사이노-011(사이노 CD38 Fab가 있는 작제물 13), IgG 동형 대조군 및 SIF1 대조군(Fc 영역이 없는 Fc 삼량체)의 용량 의존성 결합. (B) S1A-AA-사이노, S3Y-AA-사이노-011(사이노 CD38 Fab가 있는 작제물 13), IgG 동형 대조군 및 SIF1 대조군(Fc 영역이 없는 Fc 삼량체)에 대한 사이노 B 세포 결합의 빈도의 용량 의존성 증가. (C) S1A-AA-사이노, S3Y-AA-사이노-001(사이노 CD38 Fab가 있는 작제물 13), IgG 동형 대조군 및 SIF1 대조군(Fc 영역이 없는 Fc 삼량체)에 대한 B 세포 고갈의 용량 의존성 증가. 항-CD38 작제물(S3Y-AA-CD38) 처리는 항-CD38 mAb보다 훨씬 더 큰 세포 고갈을 초래하였다. 값을 미처리 대조군에서의 B 세포 빈도에 대해 정규화하였다. (A, B, C) 이러한 도면에 플롯된 값을 동일한 원숭이 혈액 공여자로부터 생성하였다.

도 30은 림프종 피하 종양 모델에서 항-CD38 작제물의 영향에 대한 평가 결과를 도시한다. SCID 마우스에 인간 림프종(Raji) 종양 세포를 피하 접종하였다. 종양 세포 이식 6일 후, 마우스를 처리군(각각 n=10)으로 무작위 분류하고, 0.5 mL의 정상 인간 혈청 보체(HSC)로 복강 내 처리하였다. 다음날(7일) HSC, 이어서 항-CD38 mAb(5.94 mg/kg의 단일 iv 용량) 또는 S3Y-AA-CD38(10 mg/kg의 단일 iv 용량) 또는 PBS(단일 IV 주입)를 다시 마우스에 복강 내 주사하였다. 8일에, HSC의 3차 ip 주사를 마우스에 제공하였다. 종양 성장을 종양 부피 측정에 의해 일상적으로 모니터링하였다. S3Y-AA-CD38 군에서 **로 표시된 점은 해당 처리군에 비해 <0.0022의 p 값을 가졌다.

도 31a는 Daudi 세포에서 ADCC, ADCP 및 CDC 활성과 관련하여 S3Y-AA-CD38(역삼각형) 및 항-CD38 mAb(원형)의 비교 결과를 도시한다.

도 31b는 항-CD38 mAb 매개 CDC에 내성인 Raji 종양 세포에 대한 ADCC, ADCP(대식세포에 의한 식세포작용의 대용물질(surrogate) 리포터를 사용하여 측정됨) 및 CDC 활성에 대한 S3Y-AA-CD38(역삼각형) 및 항-CD38 mAb(원

형)을 비교한 결과를 도시한다.

도 32는 S3Y-AA-CD38(역삼각형) 및 항-CD38 mAb(원형)에 의한 인간 전혈로부터의 종양 세포 고갈에 대한 연구 결과를 도시한다.

도 33은 Daudi 세포(왼쪽 패널, 상대적으로 높은 CD38 발현 및 상대적으로 낮은 CD55 및 CD59 발현) 및 Raji 세포(우측 패널, 상대적으로 낮은 CD38 발현 및 상대적으로 높은 CD55 및 CD59 발현)에서 S3Y-AA-CD38(역삼각형) 및 항-CD38 mAb(원형)의 보체 매개 세포독성에 대한 연구 결과를 도시한다.

도 34a는 S3Y-AA-사이노 CD38(역삼각형) 및 항-사이노 CD38 mAb(원형)의 ADCC 활성(좌측 패널) 및 CDC 활성(우측 패널)에 대한 연구 결과를 도시한다.

도 34b는 S3Y-AA-사이노 CD38(역삼각형) 및 항-사이노 CD38 mAb(원형)의 ADCC 활성(좌측 패널), ADCP 활성(중앙 패널) 및 CDC 활성(우측 패널)에 대한 연구 결과를 도시한다. 항-CD38 mAb 매개 CDC에 내성인 Raji 세포를 사용하여 CDC 활성을 측정하였다.

도 35는 S3Y-AA-사이노 CD38(역삼각형) 및 항-사이노 CD38 mAb(원형)에 의한 종양 세포 고갈에 대한 연구 결과를 도시한다.

도 36은 시험관 내(좌측 패널) 및 생체 내(우측 패널) S3Y-AA-사이노 CD38(각 쌍에서 두 번째 바) 및 항-사이노 CD38 mAb(각 쌍에서 첫 번째 바)에 의한 B 세포 고갈을 비교하는 연구 결과를 도시한다.

도 37은 시험관 내 S3Y-AA-CD38(역삼각형) 및 항-CD38 mAb(원형)에 의한 형질 세포 고갈을 비교하는 연구 결과를 도시한다. 다발성 골수종 환자 MM536로부터의 총 골수 단핵세포(BM-MNC) 내에서 항-CD38 mAb 또는 S3Y-AA-CD38에 의한 형질 세포 고갈%. 미처리 BM-MNC의 베이스라인 값에 대한 각 농도에서 생존 가능한 CD138+ 세포의 총 수로 고갈을 계산하였다.

도 38a는 FcγRIIIa, FcγRIIIa 및 보체에 결합하는 S3Y-AA-CD38이 항-CD38 mAb보다 적어도 100배 더 크다는 것을 보여주는 연구 결과를 도시한다.

도 38b는 FcγRIIA, FcγRIIIa에 결합하는 S3Y-AA-CD38은 500X 초과만큼 강화되고, 인간 보체 단백질 C1q에 대한 S3Y-AA-CD38-옵소닌화 종양 세포는 항-CD38 mAb보다 12X 강화됨을 보여주는 연구 결과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0358] 많은 치료 항체는 항체 의존성 세포독성(ADCC), 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및 보체 의존성 세포독성(CDC)과 같은 Fc 도메인의 효과기 기능을 통해 선천적 면역계의 요소를 보충함으로써 작용한다. 일부 경우에, 본 개시는 고유 생물학적 활성을 갖는 신규 치료제를 생성하기 위해 치료제, 예를 들어, 공지의 치료 항체를 함유하는 공지의 단일 Fc 도메인의 CD38 결합 도메인을 적어도 2개의 Fc 도메인과 조합하는 것을 고려한다. 일부 경우에, 본원에 개시된 신규 치료제는 공지의 Fc-도메인 함유 치료제, 예를 들어, 공지의 치료 항체보다 큰 생물학적 활성을 갖는다. 적어도 2개의 Fc 도메인의 존재는 효과기 기능을 강화하고, ADCP 및/또는 CDC와 조합하여 ADCC와 같은 다중 효과기 기능들을 활성화하여, 치료 분자의 효능을 증가시킬 수 있다. 일관된 생물학적 기능을 갖는 생성물을 생성하기 위해, Fc 도메인의 수를 제어하는 것이 중요하다. 본 개시는 제한된 수의 폴리펩티드 사슬로부터 별개의 크기의 분자를 조립하기 위해, Fc 도메인을 암호화하는 펩티드의 동종이량체화 및 이종이량체화를 제어하기 위한 Fc 유전자 조작 수단의 세트를 특징으로 한다. 국제 공개 번호 WO/2015/168643호, WO2017/151971호, WO 2017/205436호 및 WO 2017/205434호는 2개 이상의 Fc 도메인을 조립하기 위한 Fc 유전자 조작 수단 및 방법을 개시하며, 이는 전문이 본원에 참조로 포함된다. 유전자 조작 수단은 제조 결과를 상당히 개선시키는 구조적 특징(예를 들어, 글리신 링커)을 포함한다. 이들 작제물의 특성은 실질적으로 균질한 약학 조성물의 효율적인 생성을 가능하게 한다. 약학 조성물에서의 이러한 균질성은 약학 조성물의 안전성, 효능, 균일성 및 신뢰성을 보장하기 위해 바람직하다. 또한, 약학 조성물에서 이러한 동질성의 정도가 높으면 원치 않는 물질(예컨대, 분해 산물 및/또는 응집 산물 또는 다량체)에 의해 야기되는 약학적 생성물의 잠재적인 응집 또는 분해를 최소화할 뿐만 아니라 원치 않는 물질에 의해 야기되는 비표적 및 부작용을 제한한다.

[0359] 본원에 자세히 기재된 바와 같이, 2개의 Fc 도메인 단량체를 직렬로 연결하기 위한 글리신 잔기만을 포함하는 스페이서의 사용, 말단 라이신 잔기가 제거된 폴리펩티드 서열의 사용 및 이종이량체화 선택성 모듈: (i) 상이한 역전하 돌연변이를 갖는 이종이량체화 선택성 모듈 및 (ii) 유전자 조작 함몰부 및 돌출부를 갖는 이종이량체화 선택성 모듈의 두 세트의 사용을 포함하는 접근법을 사용하여 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 Fc 도메인 성

분을 유전자 조작하여 조성물의 균질성이 개선되었다.

[0360] 링커에 의해 분리된 다수의 Fc 서열을 함유하는 하나의 긴 펩티드 사슬과 단일 Fc 서열을 함유하는 단쇄의 다수의 카피(Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~6; 도 1~도 6)를 사용하여, Fc 도메인이 직렬로 연결된 일련의 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 설계하였다. 더 작거나 더 큰 복합체를 최소로 형성하면서, 조립을 원하는 직렬 구성으로 보장하기 위해 이중이량체화 돌연변이를 각각의 Fc 서열에 도입하였다. 임의의 수의 Fc 도메인이 이러한 방식으로 직렬 연결로 연결되어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 이상의 Fc 도메인을 갖는 작제물을 생성할 수 있다. N Fc 도메인을 갖는 펩티드의 경우, 이러한 작제물은 CD38 결합 도메인이 각각 긴 펩티드 사슬, 짧은 펩티드 사슬, 또는 둘 모두에 도입되는지 여부에 따라 1 내지 N+1개의 CD38 결합 도메인을 사용하여 제조될 수 있다.

[0361] Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~6(도 1~도 6)에서, Fc 도메인은 Fc 도메인 사이에 단일 분지점으로 연결되었다. 이러한 작제물은 링커에 의해 분리된 다수의 Fc 서열을 함유하는 긴 펩티드 사슬의 2개의 카피를 포함하며, 여기서 분지형 Fc 서열은 동중이량체화 돌연변이를 함유하고, 비분지형 Fc 도메인은 이중이량체화 돌연변이를 함유한다. 장쇄에서 이중이량체화 돌연변이에 상보적인 돌연변이를 갖는 단일 Fc 서열을 포함하는 단쇄의 다수의 카피를 사용하여 다량체 Fc 스캐폴드를 완성한다. 이중이량체화 Fc 도메인은 분지형 Fc 도메인의 C-말단(예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물 7~12; 도 7~도 12), N-말단(예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물 13~18; 도 13~도 18) 또는 양 말단(예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물 19~21; 도 19~도 21)에 연결될 수 있다. 직렬 연결된 다수의 Fc 도메인은 분지형 Fc 도메인의 어느 하나의 말단에 연결될 수 있다. CD38 결합 도메인은 긴 펩티드 사슬에 도입되어, 조립된 단백질 분자 당 2개의 CD38 결합 도메인을 생성할 수 있다. 또는, CD38 결합 도메인은 짧은 펩티드 사슬에 도입되어, 조립된 단백질 분자 당 N-1개의 CD38 결합 도메인을 생성할 수 있으며, 여기서 N은 조립된 단백질 분자 내의 Fc 도메인의 수이다. CD38 결합 도메인이 짧은 펩티드 사슬 및 긴 펩티드 사슬 모두에 도입되면, 생성된 조립된 단백질 분자는 N+1개의 CD38 결합 도메인을 함유한다.

[0362] 단일클론 항체(mAb) 및 Fc 도메인을 위한 과거의 유전자 조작 노력에는 Fc γ RIIIa에 대한 결합을 강화하고, 이에 따라 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 반응을 강화하기 위해 Fc 도메인에서 돌연변이를 만드는 것, 및 Fc γ RIIIa에 대한 결합을 강화하고, 이에 따라 ADCC 반응을 강화하는 Fc 도메인의 탈푸코실화가 포함되었다.

[0363] Fc γ RIIIa에 대한 결합 또는 Fc 도메인의 탈푸코실화를 강화하기 위해 Fc 도메인 내에 돌연변이를 갖는 항체와 비교하여, 본 개시 내용에 개시된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 예기치 않게 Fc γ 수용체의 여러 부류에 대한 더 강한 결합 및 다중 세포독성 경로의 강화된 활성을 특징으로 한다. 본 발명의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 이들의 상응하는 푸코실화 및 탈푸코실화 모 단일클론 항체와 비교하여 Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIIa 둘 모두에 대한 결합을 강화할 수 있다(실시예 46 참조). 추가로, 본 발명의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 예기치 않게 ADCC 경로 반응을 강화하는 것 외에도 보체 의존성 세포독성(CDC) 경로 및/또는 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 경로를 매개하는 능력을 특징으로 한다(실시예 47 참조).

[0364] **I. Fc 도메인 단량체**

[0365] Fc 도메인 단량체는 힌지 도메인, CH₂ 항체 불변 도메인 및 CH₃ 항체 불변 도메인(예를 들어, 임의의 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG1 힌지, CH₂ 항체 불변 도메인 및 CH₃ 항체 불변 도메인)의 적어도 일부를 포함한다. Fc 도메인 단량체는 면역글로불린 항체 동형 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD일 수 있다. Fc 도메인 단량체는 또한 임의의 면역글로불린 항체 동형(예를 들어, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)일 수 있다. 또한, Fc 도메인 단량체는, 예를 들어 IgG1로부터의 힌지 및 CH₂를 갖거나, IgA로부터의 CH₃를 갖거나, IgG1로부터의 힌지 및 CH₂를 갖지만 IgG3로부터의 CH₃를 갖는 혼성체일 수 있다. Fc 도메인 단량체의 이량체는 백혈구의 표면에 위치한 수용체인 Fc 수용체, 예를 들어, Fc γ RIIIa에 결합할 수 있는 (본원에서 추가로 정의된) Fc 도메인이다. 본 명세서에서, Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인은 서로의 회합을 촉진하기 위해 CH₃-CH₃ 항체 불변 도메인의 계면에 아미노산 치환을 함유할 수 있다. 다른 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 N-말단 또는 C-말단에 부착된 추가 모이어티, 예를 들어, 알부민-결합 펩티드 또는 정제 펩티드를 포함한다. 본 명세서에서, Fc 도메인 단량체는 임의의 유형의 항체 가변 영역, 예를 들어, V_H, V_L, 상보성 결정 영역(CDR) 또는 초가변 영역(HVR)을 함유하지 않는다.

[0366] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물 내의 Fc 도메인 단량체(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)는 서열번호 42의 서열에 적어도 95% 동일한(예를 들어, 적어도

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

[0367] 서열 번호 42
 [0368] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[0369] 서열 번호 44
 [0370] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[0371] 서열 번호 46
 [0372] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

[0373] 서열 번호 48
 [0374] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTKNQVSLCAVDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

[0375] 서열 번호 50
 [0376] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[0377] 서열 번호 51
 [0378] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[0379] 서열 번호 52
 [0380] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPG

[0381] 서열 번호 53
 [0382] DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[0383] **II. Fc 도메인**

[0384] 본원에 정의된 바와 같이, Fc 도메인은 CH₃ 항체 불변 도메인 사이의 상호작용으로 이량체화된 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다. Fc 도메인은 Fc 수용체, 예를 들어, Fc-감마 수용체(즉, Fc γ 수용체(Fc γ R)), Fc-알파 수용체(즉, Fc α 수용체(Fc α R)), Fc-엡실론 수용체(즉, Fc ε 수용체(Fc ε R)) 및/또는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 결합하는 최소 구조를 형성한다. 일부 구현예에서, 본 개시 내용의 Fc 도메인은 Fc γ 수용체(예를 들어, Fc γ RI(CD64), Fc γ RI Ia(CD32), Fc γ RI Ib(CD32), Fc γ RI Ia(CD16a), Fc γ RI Ib(CD16b)) 및/또는 Fc γ RIV 및/또는

신생아 Fc 수용체(FcRn)에 결합한다.

[0385] **III. CD38 결합 도메인**

[0386] 항원 결합 도메인은 표적 분자에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함한다. CD38 결합 도메인은 항체의 CD38 결합 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 항체의 단편 또는 항체-좌제물, 예를 들어, 표적 항원에 결합하는 항체의 최소 부분일 수 있다. 또한, CD38 결합 도메인은 피브로넥틴 기반 결합 단백질(예를 들어, FN3 모노바디)과 같은 표적에 특이적으로 결합하는 합성 유전자 조작 펩티드일 수 있다.

[0387] 단편 항원-결합(Fab) 단편은 표적 항원에 결합하는 항체의 영역이다. 이는 중쇄 및 경쇄 각각의 하나의 불변 도메인 및 하나의 가변 도메인을 구성한다. Fab 단편은 V_H, V_L, C_{H1} 및 C_L 도메인을 포함한다. 가변 도메인 V_H 및 V_L은 각각 단량체의 아미노 말단에 3개의 상보성 결정 영역(CDR)의 세트를 함유한다. Fab 단편은 면역글로불린 항체 동형 IgG, IgE, IgM, IgA 또는 IgD일 수 있다. 또한, Fab 단편 단량체는 임의의 면역글로불린 항체 동형 (예를 들어, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 또는 IgG4)일 수 있다. 일부 구현예에서, Fab 단편은 프로테아제 처리 (예를 들어, 펩신) 후에 면역글로불린의 제2 동일 Fab 단편에 공유 결합으로 부착되어 F(ab')₂ 단편을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, Fab는, 예를 들어 도메인 사이에 링커로 융합된 가변 도메인 및 불변 도메인 모두를 포함하는 단일 폴리펩티드로 발현될 수 있다.

[0388] 일부 구현예에서, Fab 단편의 일부만이 CD38 결합 도메인으로 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, Fab의 경쇄 성분(V_L + C_L)만이 사용될 수 있거나, Fab의 중쇄 성분(V_H + C_H)만이 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, Fab 가변 영역의 V_H 및 V_L 사슬의 융합 단백질인 단일-사슬 가변 단편(scFv)이 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, 직렬 Fd 세그먼트 쌍(V_H-C_{H1}-V_H-C_{H1})을 포함하고, 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 CD38 결합 영역 쌍을 형성하는 선형 항체가 사용될 수 있다.

[0389] 일부 구현예에서, 본 발명의 CD38 결합 도메인은 표 1에 열거된 표적 또는 항원에 대해, 열거된 표적 또는 항원에 대한 표 1에 열거된 CDR 서열 중 1, 2, 3, 4, 5개 또는 6개 모두를 포함하며, 이는 하기 표 1에 추가로 상세히 제공된다.

표 1

[0390]

항체명	CDR 서열					
	CDR1-IMGT(중쇄)	CDR2-IMGT(중쇄)	CDR3-IMGT(중쇄)	CDR1-IMGT(경쇄)	CDR2-IMGT(경쇄)	CDR3-IMGT(경쇄)
항-CD38	GFTFNSFA (서열 번호 85)	ISGSGGGT (서열 번호 115)	AKDKILWFGE PV FDY (서열 번호 148)	QSVSSY (서열 번호 180)	DAS	QQRSNWPPT (서열 번호 211)
이사특시맵	GYTFTDYW (서열 번호 86)	IYPGDGDT (서열 번호 109)	ARGDYYSNSLD Y (서열 번호 149)	QDVSTV (서열 번호 181)	SAS	QQHYSPPYT (서열 번호 212)
MOR202(Kabat 넘버링)	SYYMN	GISGDP SNTYYA DSVKG	DLPLVYTG FAY	SGDNL RHYYVY	GDSKRPS	QTYTGGAS

표 2

[0391]

V _H 및 V _L 서열		
항체명	V _H	V _L

<p>이사특시맵</p>	<p>(VH + CH1) QVQLVQSGAEVAKPGTQSVKLSCKASGYTFTDYWMQW VKQRPGQGLEWIGTIYPGDGDTGYAQKFGKATLTA DKSSKTVYMHLSLASEDSAVYYCARGDYYSNSLD YWQGTSVTYSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYN 300 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK</p>	<p>DIIVMTQSHLSMSTSLGDPVSI TCKASQDVSTVVAW YQQKPGQSPRRLIYSASYRYIGVPDRFTGSGAGTDF TFTISSVQAEDLAVYYCQQHYSPPYTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYLSSTL TLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>
<p>MOR202</p>	<p>QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMNW VRQAPGKGLEWVSGISGDPSTNTYYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLPLVYTGFA YWQGGLTVTV</p>	<p>DIELTQPPSVSVAPGQTARISCSGDNLRHYYVYWYQ QKPGQAPVLIYIGDSKRPSGIPERFSGSNSGNTATL TISGTQAEDEADYICQTYTGGASLVFGGGTKLTVLG Q</p>

- [0392] Fc-항원 결합 도메인 작제물 1의 CD38 결합 도메인(도 1의 110/104)은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0393] Fc-항원 결합 도메인 작제물 2의 CD38 결합 도메인(도 2의 212/204)은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0394] Fc-항원 결합 도메인 작제물 3의 CD38 결합 도메인(도 3의 308/316 및 312/318) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0395] Fc-항원 결합 도메인 작제물 4의 CD38 결합 도메인(도 4의 410/412, 416/418 및 422/424) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0396] Fc-항원 결합 도메인 작제물 5의 CD38 결합 도메인(도 5의 510/504, 512/514 및 518/520) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0397] Fc-항원 결합 도메인 작제물 6의 CD38 결합 도메인(도 6의 612/604, 614/616, 620/622 및 626/628) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0398] Fc-항원 결합 도메인 작제물 7의 CD38 결합 도메인(도 7의 712/714 및 714/716) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0399] Fc-항원 결합 도메인 작제물 8의 CD38 결합 도메인(도 8의 812/806 및 818/822) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0400] Fc-항원 결합 도메인 작제물 9의 CD38 결합 도메인(도 9의 908/906, 920/922, 912/914 및 926/930) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0401] Fc-항원 결합 도메인 작제물 10의 CD38 결합 도메인(도 10의 1006/1004 및 1018/1020) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0402] Fc-항원 결합 도메인 작제물 11의 CD38 결합 도메인(도 11의 1112/1114, 1122/1108, 1128/1142 및 1138/1136) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0403] Fc-항원 결합 도메인 작제물 12의 CD38 결합 도메인(도 12의 1218/1220, 1212/1214, 1250/1208, 1248/1246, 1242/1240 및 1236/1234) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0404] Fc-항원 결합 도메인 작제물 13의 CD38 결합 도메인(도 13의 1310/1304 및 1314/1322) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0405] Fc-항원 결합 도메인 작제물 14의 CD38 결합 도메인(도 14의 1408/1406 및 1416/1424) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.

- [0406] Fc-항원 결합 도메인 작제물 15의 CD38 결합 도메인(도 15의 1508/1506, 1514/1516, 1532/1520 및 1530/1528) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0407] Fc-항원 결합 도메인 작제물 16의 CD38 결합 도메인(도 16의 1616/1604 및 1618/1630) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0408] Fc-항원 결합 도메인 작제물 17의 CD38 결합 도메인(도 17의 1712/1714, 1724/1708, 1726/1742 및 1738/1736) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0409] Fc-항원 결합 도메인 작제물 18의 CD38 결합 도메인(도 18의 1812/1814, 1828/1808, 1826/1824, 1830/1832, 1850/1848 및 1844/1842) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0410] Fc-항원 결합 도메인 작제물 19의 CD38 결합 도메인(도 19의 1914/1904 및 1920/1922) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0411] Fc-항원 결합 도메인 작제물 20의 CD38 결합 도메인(도 20의 2014/2016, 2042/2008, 2036/2034 및 2028/2026) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0412] Fc-항원 결합 도메인 작제물 21의 CD38 결합 도메인(도 21의 2114/2116, 2150/2108, 2148/2146, 2138/2140, 2136/2134 및 2128/2126) 각각은 표 1에 열거된 항체 중 어느 하나의 3개의 중쇄 및 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.
- [0413] **IV. 이량체화 선택성 모듈**
- [0414] 본 개시 내용에서, 이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인을 형성하는 2개의 Fc 도메인 단량체의 선호되는 페어링을 용이하게 하는 Fc 도메인 단량체 내의 성분 또는 선택 아미노산을 포함한다. 구체적으로, 이량체화 선택성 모듈은 2개의 Fc 도메인 단량체의 상호작용하는 CH₃ 항체 불변 도메인의 계면에 위치한 아미노산 치환을 포함하는 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인 쌍의 일부이다. 이량체화 선택성 모듈에서, 아미노산 치환은 이들 치환을 위해 선택된 아미노산의 양립성의 결과로서 2개의 CH₃ 항체 불변 도메인의 단량체화를 유리하게 한다. 선호되는 Fc 도메인의 최종 형성은 이량체화 선택성 모듈이 결여되거나 이량체화 선택성 모듈 내의 비양립성 아미노산 치환을 갖는 Fc 도메인 단량체로부터 형성되는 다른 Fc 도메인에 대해 선택적이다. 이러한 유형의 아미노산 치환은 QuikChange[®] 돌연변이 유발과 같이 당업계에서 잘 알려진 통상적인 분자 클로닝 기술을 사용하여 이루어질 수 있다.
- [0415] 일부 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 CH₃ 항체 불변 도메인의 (본원에서 추가로 기재된 "홀"의) 유전자 조작 함몰부를 포함한다. 다른 구현예에서, 이량체화 선택성 모듈은 CH₃ 항체 불변 도메인의 (본원에서 추가로 기재된 "노브"의) 유전자 조작 돌출부를 포함한다. Fc 도메인을 선택적으로 형성하기 위해, 양립성 이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체, 예컨대, 유전자 조작 함몰부를 함유하는 하나의 CH₃ 항체 불변 도메인 및 유전자 조작 돌출부를 함유하는 다른 하나의 CH₃ 항체 불변 도메인은 결합하여 Fc 도메인 단량체의 돌출부-함몰부(또는 "노브 및 홀") 쌍을 형성한다. 유전자 조작 돌출부 및 유전자 조작 함몰부는 양립성 이중이량체화 선택성 모듈을 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 이중이량체화를 촉진하기 위해 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인에서 이루어질 수 있는 이중이량체화 선택성 모듈의 예이다. 적합한 돌연변이가 표 3에 열거된다.
- [0416] 다른 구현예에서, 양전하 아미노산 치환을 함유하는 이량체화 선택성 모듈을 갖는 Fc 도메인 단량체 및 음전하 아미노산 치환을 함유하는 이량체화 선택성 모듈을 갖는 Fc 도메인 단량체는 (본원에서 추가로 기재된) 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있으며, 상기 Fc 도메인 단량체를 사용하여 이량체화가 달성된다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양전하 및 음전하 아미노산 치환 중 하나를 포함할 수 있다: K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 일 실시예에서, 양전하 아미노산 치환, 예를 들어, D356K 또는 E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 음전하 아미노산 치환, 예를 들어, K370D 또는 K370E를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K370D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc

도메인을 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 역전하 아미노산 치환은 이중이량체화 선택성 모듈로 사용될 수 있는데, 상이하지만 양립성인 역전하 아미노산 치환을 함유하는 2개의 Fc 도메인 단량체는 결합하여 이중이량체 Fc 도메인을 형성한다. 이중이량체화를 촉진하기 위한 다양한 역전하 이량체화 선택성 모듈이 표 3에 열거된다.

[0417] 노브 앤드 홀 돌연변이 및 정전기 스티어링 돌연변이 외에, 이중이량체화를 촉진하기 위해 사용될 수 있는 추가의 유형의 돌연변이가 존재한다. 이러한 돌연변이가 또한 표 3에 열거된다.

[0418] 다른 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 CH₃ 도메인 사이의 계면에서 하전된 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치에 동일한 역전하 돌연변이를 함유하는 동종이량체화 선택성 모듈을 포함한다. 동종이량체화 선택성 모듈은 Fc 도메인 단량체의 동종이량체화를 촉진하여 동종이량체 Fc 도메인을 형성하는 역전하 아미노산 치환이다. 2개의 Fc 도메인 단량체에서 2개 이상의 상보적인 잔기 쌍의 두 구성원의 전하를 역전시킴으로써, 돌연변이된 Fc 도메인 단량체는 동일한 돌연변이된 서열의 Fc 도메인 단량체에 대한 상보성을 유지하지만, 이러한 돌연변이가 없는 Fc 도메인 단량체에 대해 더 낮은 상보성을 갖는다. 일 구현예에서, Fc 도메인은 이중 돌연변이 K409D/D399K, K392D/D399K, E357K/K370E, D356K/K439D, K409E/D399K, K392E/D399K, E357K/K370D 또는 D356K/K439E를 포함하는 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 또 다른 구현예에서, Fc 도메인은 임의의 쌍의 이중 돌연변이, 예를 들어 K409D/D399K/E357K/K370E를 결합하는 4중 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 동종이량체화를 촉진하는 다양한 선택성 모듈이 표 4A 및 표 4B에 열거된다.

[0419] 추가의 구현예에서, (i) 적어도 하나의 역전하 돌연변이 및 (ii) 적어도 하나의 유전자 조작 함몰부 또는 적어도 하나의 유전자 조작 돌출부를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 (i) 적어도 하나의 역전하 돌연변이 및 (ii) 적어도 하나의 유전자 조작 돌출부 또는 적어도 하나의 유전자 조작 함몰부를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체와 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 예를 들어, 역전하 돌연변이 K370D 및 유전자 조작 함몰부 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 역전하 돌연변이 E357K 및 유전자 조작 돌출부 S354C 및 T366W를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체는 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다.

[0420] 이러한 Fc 도메인의 형성은 CH₃ 항체 불변 도메인의 양립성 아미노산 치환에 의해 촉진된다. 비양립성 아미노산 치환을 함유하는 2개의 이량체화 선택성 모듈, 예를 들어, 둘 모두가 CH₃-CH₃ 계면에서 유전자 조작 함몰부를 함유하는 것, 둘 모두가 유전자 조작 돌출부를 함유하는 것, 또는 둘 모두가 동일한 하전 아미노산을 함유하는 것은 이중이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하지 않을 것이다.

[0421] 또한, 정의된 Fc 도메인 단량체를 갖는 Fc 도메인의 형성을 촉진하는 데 사용된 다른 방법은 류신 지퍼의 단량체 α-나선을 Fc 도메인 단량체 각각에 C-말단 융합하여 이중이량체의 형성을 가능하게 하는 LUZ-Y 접근법(미국 특허 출원 공개 제W02011034605호)뿐 아니라, 각각이 IgA 및 IgG CH₃ 서열의 교차하는 세그먼트를 포함하는 이중이량체 Fc 도메인 단량체를 갖는 Fc 도메인을 생성하는 SEED(strand-exchange engineered domain) 바디 접근법(문헌[Davis et al., *Protein Eng Des Sel.* 23:195-202, 2010])을 제한 없이 포함한다.

[0422] **V. 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부**

[0423] 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부(또는 "노브-홀" 전략)는 Carter 및 동료 연구자들에 의해 설명된다(문헌[Ridgway et al., *Protein Eng.* 9:617-612, 1996]; 문헌[Atwell et al., *J Mol Biol.* 270:26-35, 1997]; 문헌[Merchant et al., *Nat Biotechnol.* 16:677-681, 1998]). 노브-홀의 상호작용은 이중이량체 형성을 유리하게 하는 반면, 노브-노브 및 홀-홀 상호작용은 입체적 충돌 및 유리한 상호작용의 결실로 인해 동종이량체 형성을 저해한다. "노브-홀" 기술은 미국 특허 번호 제5,731,168호에도 개시되어 있다.

[0424] 본 개시 내용에서, 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부는 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제조에 사용된다. 유전자 조작 함몰부는 단백질의 원래의 아미노산이 측쇄 부피가 더 작은 상이한 아미노산으로 대체될 때 생성되는 빈 공간이다. 유전자 조작 돌출부는 단백질의 원래의 아미노산이 측쇄 부피가 더 큰 상이한 아미노산으로 대체될 때 생성되는 돌출이다. 구체적으로, 대체된 아미노산은 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인에 있고 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체화에 관여한다. 일부 구현예에서, 하나의 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부는 또 다른 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전자 조작 돌출부를 수용하도록 생성되어, CH₃ 항체 불변 도메인 둘 모두는 2개의 Fc 도메인 단량체의 이량체화를 촉진하거나 유리하게 하는 (상술한) 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이중이량체화 선택성 모듈)로서 작용한다. 다른 구현예에서, 하나의 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전자 조작 함몰부는 또 다른 CH₃ 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산을 더 잘 수용하도록 생성된다. 또 다른

구현예에서, 하나의 CH₃ 항체 불변 도메인의 유전자 조작 돌출부는 또 다른 CH₃ 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산과 추가 상호작용을 형성하도록 생성된다.

[0425] 유전자 조작 함몰부는 타이로신 또는 트립토판과 같은 더 큰 측쇄를 함유하는 아미노산을 알라닌, 발린 또는 트레오닌과 같은 더 작은 측쇄를 함유하는 아미노산으로 대체함으로써 구성될 수 있다. 구체적으로, (상기에 추가로 기재된) 일부 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이중이량체화 선택성 모듈)은 CH₃ 항체 불변 도메인에 Y407V 돌연변이와 같은 유전자 조작 함몰부를 함유한다. 유사하게, 유전자 조작 돌출부는 더 작은 측쇄를 함유하는 아미노산을 더 큰 측쇄를 함유하는 아미노산으로 대체함으로써 구성될 수 있다. 구체적으로, (상기에 추가로 기재된) 일부 이량체화 선택성 모듈(예컨대, 이중이량체화 선택성 모듈)은 CH₃ 항체 불변 도메인에 T366W 돌연변이와 같은 유전자 조작 돌출부를 함유한다. 본 개시 내용에서, 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부는 또한 이중이량체 형성을 강화하기 위해 CH₃ 도메인 사이의 이황화 결합 유전자 조작과 결합된다. 일 실시예에서, 유전자 조작 함몰부 Y349C, T366S, L368A 및 Y407V를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 유전자 조작 돌출부 S354C 및 T366W를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체와 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, Y349C가 첨가된 유전자 조작 함몰부를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 S354C가 첨가된 유전자 조작 돌출부를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 다른 유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부, 이황화 결합 유전자 조작 또는 구조 계산(혼합 HA-TF)과 함께 표 3에 제한 없이 포함된다.

[0426] 상이한 아미노산 잔기를 갖는 CH₃ 항체 불변 도메인의 원래의 아미노산 잔기를 대체하는 것은 원래의 아미노산 잔기를 암호화하는 핵산을 변경함으로써 달성될 수 있다. 대체될 수 있는 원래의 아미노산 잔기 수의 상한은 계면에서의 충분한 상호작용이 여전히 유지되는 한, CH₃ 항체 불변 도메인의 계면에서 있는 총 잔기의 수이다.

[0427] *유전자 조작 함몰부 및 유전자 조작 돌출부와 정전기 스티어링의 조합*

[0428] 전기 스티어링을 노브-홀 기술과 조합하여, 예를 들어, 2개의 상이한 폴리펩티드의 Fc 도메인 단량체 사이의 이중이량체화를 유리하게 할 수 있다. 이후에 보다 자세히 설명되는 정전기 스티어링은 보다 고차 단백질 분자의 형성을 조절하기 위해 펩티드, 단백질 도메인 및 단백질의 반대로 하전된 아미노산 사이의 유리한 정전기 상호작용을 이용하는 것이다. 전기 스티어링을 사용하여 동중이량체화 또는 이중이량체화를 촉진할 수 있으며, 후자는 노브-홀 기술과 유용하게 조합될 수 있다. 이중이량체화의 경우, 상이하지만 양립성인 돌연변이는 이중이량체화되는 각각의 Fc 도메인 단량체에 도입된다. 따라서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양전하 및 음전하 아미노산 치환 중 하나를 포함하도록 변형될 수 있다: D356K, D356R, E357K, E357R, K370D, K370E, K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 예를 들어, 하나의 Fc 도메인 단량체, 예를 들어, 함몰부(Y349C, T366S, L368A 및 Y407V)를 갖는 Fc 도메인 단량체는 K370D 돌연변이를 또한 포함하며, 다른 Fc 도메인 단량체, 예를 들어, 돌출부(S354C 및 T366W)를 갖는 Fc 도메인 단량체는 E357K를 포함할 수 있다.

[0429] 보다 일반적으로, 임의의 함몰부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): Y407T, Y407A, F405A, Y407T, T394S, T394W:Y407A, T366W:T394S, T366S:L368A:Y407V:Y349C 및 S3364H:F405가 표 3의 정전기 스티어링 돌연변이와 조합될 수 있고, 임의의 돌출부 돌연변이(또는 돌연변이 조합): T366Y, T366W, T394W, F405W, T366Y:F405A, T366W:Y407A, T366W:S354C 및 Y349T:T394F가 표 3의 정전기 스티어링 돌연변이와 조합될 수 있다.

[0430] VI. 정전기 스티어링

[0431] 정전기 스티어링은 보다 고차 단백질 분자의 형성을 조절하기 위해 펩티드, 단백질 도메인 및 단백질의 반대로 하전된 아미노산 사이의 유리한 정전기 상호작용을 이용하는 것이다. 이중-특이적 항체의 생성에서 이중이량체 형성을 위하여 동중이량체의 형성을 감소시키는 항체 도메인의 상호작용을 변경하는 정전기 스티어링 효과를 이용하는 방법은 미국 특허 출원 공개 제2014-0024111호에 개시되어 있다.

[0432] 본 개시 내용에서, 정전기 스티어링은 Fc 도메인 단량체의 이량체화 및 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 형성을 제어하는 데 사용된다. 특히, 정전기 스티어링을 사용하는 Fc 도메인 단량체의 이량체화를 제어하기 위하여, CH₃-CH₃ 계면을 구성하는 하나 이상의 아미노산 잔기는 양전하 또는 음전하 아미노산 잔기로 대체되어 도입된 특정 하전 아미노산에 따라 상호작용은 정전기적으로 유리하거나 불리하게 된다. 일부 구현예에서, 계면의 양전하 아미노산, 예를 들어 라이신, 아르기닌 또는 히스티딘은 음전하 아미노산, 예를 들어 아스파르트산 또는 글루탐산으로 대체된다. 다른 구현예에서, 계면의 음전하 아미노산은 양전하 아미노산으로 대체된다. 하전 아미노산은

상호작용하는 CH₃ 향체 불변 도메인 중 하나 또는 둘 모두에 도입될 수 있다. 하전 아미노산을 상호작용하는 CH₃ 향체 불변 도메인에 도입함으로써, 하전 아미노산 사이의 상호작용으로 인한 정전기 스티어링 효과에 의해 제어되는 Fc 도메인 단량체의 이량체를 선택적으로 형성할 수 있는 (상기에서 추가로 기재되는) 이량체화 선택성 모듈이 생성된다.

[0433] 일부 구현예에서, 정전기 스티어링 효과에 의해 제어되어 Fc 도메인 단량체의 이량체를 선택적으로 형성할 수 있는 역전하를 포함하는 이량체화 선택성 모듈을 생성하기 위해, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이중이량체화 또는 동중이량체화를 통해 선택적으로 형성될 수 있다.

[0434] Fc 도메인 단량체의 이중이량체화

[0435] Fc 도메인 단량체의 이중이량체화는 표 3에 제한 없이 포함된 전하 잔기 쌍과 같은 2개의 Fc 도메인 단량체에 상이하지만 양립성인 돌연변이를 도입함으로써 촉진될 수 있다. 일부 구현예에서, Fc 도메인 단량체는 다음의 양전하 및 음전하 아미노산 치환 중 하나를 포함할 수 있다: D356K, D356R, E357K, E357R, K370D, K370E, K392D, K392E, D399K, K409D, K409E, K439D 및 K439E. 일 실시예에서, 양전하 아미노산 치환, 예를 들어, D356K 또는 E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 음전하 아미노산 치환, 예를 들어, K370D 또는 K370E를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다. 또 다른 실시예에서, E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체와 K370D를 함유하는 Fc 도메인 단량체는 하전 아미노산의 유리한 정전기 스티어링을 통해 선택적으로 결합하여 Fc 도메인을 형성할 수 있다.

[0436] 예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 3개의 Fc 도메인 중 2개는 정전기 스티어링 효과에 의해 촉진되어 2개의 Fc 도메인 단량체의 이중이량체화에 의해 형성될 수 있다. "이중이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 이중이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 이들 2개의 Fc 도메인 단량체의 유리한 형성을 촉진하는 상이한 역전하 돌연변이(이중이량체화 선택성 모듈)(예를 들어, 표 4A 및 표 4B의 돌연변이 참조)를 함유한다. 3개의 Fc 도메인(하나의 카복시 말단 "줄기" Fc 도메인 및 2개의 아미노 말단 "분지" Fc 도메인)를 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 아미노 말단 "분지" Fc 도메인 각각은 이중이량체 Fc 도메인("분지 이중이량체 Fc 도메인"이라고도 불림)(예컨대, 도 1의 Fc 도메인 단량체(106 및 114) 또는 Fc 도메인 단량체(112 및 116)에 의해 형성된 이중이량체 Fc 도메인; 도 2의 Fc 도메인 단량체(206 및 214) 또는 Fc 도메인 단량체(212 및 216)에 의해 형성된 이중이량체 Fc 도메인)일 수 있다. 분지 이중이량체 Fc 도메인은 E357K를 함유하는 Fc 도메인 단량체 및 K370D를 함유하는 또 다른 Fc 도메인 단량체에 의해 형성될 수 있다.

표 3

Fc 이중이량체화 방법			
방법	돌연변이 (사슬 A)	돌연변이 (사슬 B)	참조 문헌
노브-홀 (Y-T)	Y407T	T336Y	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	Y407A	T336W	미국 특허 # 8,216,805

[0437]

노브-홀	F405A	T394W	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	Y407T	T366Y	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	T394S	F405W	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	T394W, Y407T	T366Y, F406A	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	T394S, Y407A	T366W, F405W	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	T366W, T394S	F405W, T407A	미국 특허 # 8,216,805
노브-홀	S354C, T366W	Y349C, T366S, L368A, Y407V	
노브-홀 (CW-CSAV)	Y349C, T366S, L368A, Y407V	S354C, T366W	Zeidler et al., J immunol. 163: 1246-52, 1999
HA-TF	S364H, F405A	Y349T, T394F	WO2011028952
정전기 스티어링	K409D	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409D	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409E	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K409E	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392D	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392D	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392E	D399K	US 2014/0024111
정전기 스티어링	K392E	D399R	US 2014/0024111
정전기 스티어링 (DD-KK)	K392D, K409D	E356K, D399K	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010
정전기 스티어링	K370E, K409D, K439E	E356K, E357K, D399K	WO 2006/106905
노브-홀 + 정전기 스티어링	S354C, E357K, T366W	Y349C, T366S, L368A, K370D, Y407V	WO 2015/168643
VYAV-VLLW	T350V, L351Y, F405A, Y407V	T350V, T366L, K392L, T394W	Von Kreudenstein et al, MAbs, 5:646-54, 2013
EEE-RRR	D221E, P228E, L368E	D221R, P228R, K409R	Strop et al, J Mol Biol, 420:204-19, 2012
EW-RVT	K360E, K409W	Q347R, D399V, F405T	Choi et al, Mol Cancer Ther, 12:2748-59, 2013
EW-RVTs-s	K360E, K409W, Y349C	Q347R, D399V, F405T, S354C	Choi et al, Mol Immunol, 65:377-83, 2015
전하 도입 (DK)	L351D	T366K	De Nardis, J Biol Chem, 292:14706-17, 2017

[0438]

전하 도입 (DEKK)	L351D, L368E	L351K, T366K	De Nardis, J Biol Chem, 292:14706-17, 2017
L-R	F405L	K409R	Labrijn et al, Proc Natl Acad Sci USA, 110:5145-50, 2013
	IgG/A 키메라	IgG/A 키메라	Davis et al, Protein Eng Des Sel, 23:195-202, 2010
	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
	S364K, T366V, K370T, K392Y, K409W, T411N	F405A, Y407S	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
	Q347A, S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R, T411R	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
BEAT (A/B - T)	S364K, T366V, K370T, K392Y, F405S, Y407V, K409W, T411N	Q347E, Y349A, L351F, S364T, T366V, K370T, T394D, V397L, D399E, F405A, Y407S, K409R	Skegro et al, J Biol Chem, 292:9745-59, 2017
DMA-RRVV	K360D, D399M, Y407A	E345R, Q347R, T366V, K409V	Leaver-Fay et al, Structure, 24:641-51, 2016
SYMV-GDQA	Y349S, K370Y, T366M, K409V	E356G, E357D, S364Q, Y407A	Leaver-Fay et al, Structure, 24:641-51, 2016
정전기 스티어링	K370D	E357K	
정전기 스티어링	K370D	E357R	
정전기 스티어링	K370E	E357K	
정전기 스티어링	K370E	E357R	
정전기 스티어링	K370D	D356K	
정전기 스티어링	K370D	D356R	
정전기 스티어링	K370E	D356K	
정전기 스티어링	K370E	D356R	

[0439]

[0440]

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

[0441]

Fc 도메인 단량체의 동중이량체화

[0442]

Fc 도메인 단량체의 동중이량체화는 동일한 정전기 스티어링 돌연변이(동중이량체화 선택성 모듈)를 Fc 도메인 단량체 둘 모두에 대칭 방식으로 도입함으로써 촉진될 수 있다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체는 CH₃ 도메인 사이의 계면에서 하전된 잔기의 고리 내의 적어도 2개의 위치에 동일한 역전하 돌연변이를 함유하는 동중이량체화 선택성 모듈을 포함한다. 2개의 Fc 도메인 단량체에서 2개 이상의 상보적인 잔기 쌍의 두 구성원의 전하를 역전시킴으로써, 돌연변이된 Fc 도메인 단량체는 동일한 돌연변이된 서열의 Fc 도메인 단량체에 대한 상보성을 유지하지만, 이러한 돌연변이가 없는 Fc 도메인 단량체에 대해 더 낮은 상보성을 갖는다. Fc 도메인 단량체 내에 도입되어 이의 동중이량체화를 촉진할 수 있는 정전기 스티어링 돌연변이는 표 4A 및 표 4B에 제한 없이 나타나 있다. 일 구현예에서, Fc 도메인은 이중 역전하 돌연변이(표 4A 및 표 4B), 예를 들어, K409D/D399K를 각각 포함하는 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다. 또 다른 구현예에서, Fc 도메인은 사중 역전하 돌연변이(표 4A 및 표 4B), 예를 들어, K409D/D399K/K370D/E357K를 각각 포함하는 2개의 Fc 도메인 단량체를 포함한다.

[0443]

예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 3개의 Fc 도메인 중 1개는 정전기 스티어

링 효과에 의해 촉진되어 2개의 Fc 도메인 단량체의 동중이량체화에 의해 형성될 수 있다. "동중이량체 Fc 도메인"은 2개의 Fc 도메인 단량체의 동중이량체화에 의해 형성되는 Fc 도메인을 지칭하되, 2개의 Fc 도메인 단량체는 동일한 역전하 돌연변이(예를 들어, 표 4A 및 표 4B의 돌연변이 참조)를 함유한다. 3개의 Fc 도메인(하나의 카복실 말단 "줄기" Fc 도메인 및 2개의 아미노 말단 "분지" Fc 도메인)을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에서, 카복시 말단 "줄기" Fc 도메인은 동중이량체 Fc 도메인(또한 "줄기 동중이량체 Fc 도메인"으로도 불림)일 수 있다. 줄기 동중이량체 Fc 도메인은, 각각 이중 돌연변이 K409D/D399K를 함유하는 2개의 Fc 도메인 단량체에 의해 형성될 수 있다.

[0444] [표 4a]

Fc 동중이량체화 방법 - 각 사슬에 2개의 돌연변이		
방법	돌연변이 (사슬 A 및 B)	참조 문헌
야생형	없음	미국 특허 # 8,216,805
정전기 스티어링 (KD)	D399K/K409D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D399K/K409E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	E357K/ K370D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	E357K/ K370E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D356K/K439D	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	D356K/K439E	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	K392D/D399K	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	K392E/D399K	Gunasekaran et al., J Biol Chem. 285: 19637-46, 2010, WO 2015/168643
정전기 스티어링	K409D/D399R	
정전기 스티어링	K409E/D399R	
정전기 스티어링	K392D/D399R	

[0445]

[0446] [표 4b]

Fc 동종이량체화 방법 - 각 사슬에 4개의 들연변이	
동종이량체 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체 각각의 C ₄₃ 항체 불변 도메인의 역전하 들연변이(들)	동종이량체 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체 각각의 C ₄₃ 항체 불변 도메인의 역전하 들연변이(들)
K409D/D399K/K370D/E357K	K392D/D399K/K370D/E357K
K409D/D399K/K370D/E357R	K392D/D399K/K370D/E357R
K409D/D399K/K370E/E357K	K392D/D399K/K370E/E357K
K409D/D399K/K370E/E357R	K392D/D399K/K370E/E357R
K409D/D399K/K370D/D356K	K392D/D399K/K370D/D356K
K409D/D399K/K370D/D356R	K392D/D399K/K370D/D356R
K409D/D399K/K370E/D356K	K392D/D399K/K370E/D356K
K409D/D399K/K370E/D356R	K392D/D399K/K370E/D356R
K409D/D399R/K370D/E357K	K392D/D399R/K370D/E357K
K409D/D399R/K370D/E357R	K392D/D399R/K370D/E357R
K409D/D399R/K370E/E357K	K392D/D399R/K370E/E357K
K409D/D399R/K370E/E357R	K392D/D399R/K370E/E357R
K409D/D399R/K370D/D356K	K392D/D399R/K370D/D356K
K409D/D399R/K370D/D356R	K392D/D399R/K370D/D356R
K409D/D399R/K370E/D356K	K392D/D399R/K370E/D356K
K409D/D399R/K370E/D356R	K392D/D399R/K370E/D356R
K409E/D399K/K370D/E357K	K392E/D399K/K370D/E357K
K409E/D399K/K370D/E357R	K392E/D399K/K370D/E357R
K409E/D399K/K370E/E357K	K392E/D399K/K370E/E357K
K409E/D399K/K370E/E357R	K392E/D399K/K370E/E357R
K409E/D399K/K370D/D356K	K392E/D399K/K370D/D356K
K409E/D399K/K370D/D356R	K392E/D399K/K370D/D356R
K409E/D399K/K370E/D356K	K392E/D399K/K370E/D356K
K409E/D399K/K370E/D356R	K392E/D399K/K370E/D356R
K409E/D399R/K370D/E357K	K392E/D399R/K370D/E357K
K409E/D399R/K370D/E357R	K392E/D399R/K370D/E357R
K409E/D399R/K370E/E357K	K392E/D399R/K370E/E357K
K409E/D399R/K370E/E357R	K392E/D399R/K370E/E357R
K409E/D399R/K370D/D356K	K392E/D399R/K370D/D356K
K409E/D399R/K370D/D356R	K392E/D399R/K370D/D356R
K409E/D399R/K370E/D356K	K392E/D399R/K370E/D356K
K409E/D399R/K370E/D356R	K392E/D399R/K370E/D356R

[0447]

[0448] VII. 링커

[0449] 본 발명에서, 링커는 폴리펩티드 또는 단백질 도메인 및/또는 회합된 비단백질 모이어티 간의 결합 또는 연결을 기술하는 데 사용된다. 일부 구현예에서, 링커는 적어도 2개의 Fc 도메인 단량체 간의 결합 또는 연결이고, 이 경우 링커는 제1 Fc 도메인 단량체의 C₄₃ 항체 불변 도메인의 C-말단을 제2 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단에 연결하여, 2개의 Fc 도메인 단량체가 직렬로 서로 연결된다. 다른 구현예에서, 링커는 Fc 도메인 단량체와 이에 부착되는 임의의 다른 단백질 도메인 사이의 결합이다. 예를 들어, 링커는 Fc 도메인 단량체의 CH₃ 항체 불변 도메인의 C-말단을 알부민-결합 펩티드의 N-말단에 부착시킬 수 있다.

[0450] 링커는 펩티드 결합과 같은 단순 공유 결합, 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 중합체와 같은 합성 중합체이거나, 화학적 접합과 같이 화학 반응으로 생성된 임의의 종류의 결합일 수 있다. 링커가 펩티드 결합인 경우, 하나의 단백질 도메인의 C-말단의 카복실산 기는 펩티드 결합을 형성하는 축합 반응에서 또 다른 단백질 도메인의 N-말단에서 아미노 기와 반응할 수 있다. 구체적으로, 펩티드 결합은 당업계에서 잘 알려진 통상의 유기 화학 반응을 통한 합성 수단으로 형성될 수 있거나, 숙주 세포에서의 천연 생성에 의해 형성될 수 있으며, 두 단백질 모두의 DNA 서열을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 서열, 예컨대, 직렬 연결의 2개의 Fc 도메인 단량체는 필수 분자 기구, 예컨대, 숙주 세포의 DNA 중합효소 및 리보솜에 의해 두 단백질 모두를 암호화하는 인접 폴리펩티드로 직접 전사 및 번역될 수 있다.

[0451] 링커가 합성 중합체, 예컨대 PEG 중합체인 경우, 중합체는 각 말단에서 반응성 화학 작용기로 작용화되어, 두

단백질의 연결 말단에서 말단 아미노산과 반응할 수 있다.

[0452] (상술한 펩티드 결합을 제외하고) 링커가 화학 반응으로 만들어지는 경우, 화학 작용기, 예컨대 아민, 카복실산, 에스테르, 아지드, 또는 당업계에서 통상 사용되는 기타 작용기는 하나의 단백질의 C-말단 및 또 다른 단백질의 N-말단에 각각 합성되어 부착될 수 있다. 이어서, 두 작용기는 화학 결합을 형성하는 합성 화학 수단을 통해 반응하여, 2개의 단백질을 함께 연결할 수 있다. 이러한 화학적 접합 절차는 당업자에게 통상적인 것이다.

[0453] *스페이서*

[0454] 본 개시 내용에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200개, 3~180개, 3~160개, 3~140개, 3~120개, 3~100개, 3~90개, 3~80개, 3~70개, 3~60개, 3~50개, 3~45개, 3~40개, 3~35개, 3~30개, 3~25개, 3~20개, 3~15개, 3~10개, 3~9개, 3~8개, 3~7개, 3~6개, 3~5개, 3~4개, 4~200개, 5~200개, 6~200개, 7~200개, 8~200개, 9~200개, 10~200개, 15~200개, 20~200개, 25~200개, 30~200개, 35~200개, 40~200개, 45~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개 또는 180~200개의 아미노산)을 포함하는 아미노산 스페이서일 수 있다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200개, 12~180개, 12~160개, 12~140개, 12~120개, 12~100개, 12~90개, 12~80개, 12~70개, 12~60개, 12~50개, 12~40개, 12~30개, 12~20개, 12~19개, 12~18개, 12~17개, 12~16개, 12~15개, 12~14개, 또는 12~13개의 아미노산) (예컨대, 14~200개, 16~200개, 18~200개, 20~200개, 30~200개, 40~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개, 180~200개 또는 190~200개의 아미노산)을 함유하는 아미노산 스페이서이다. 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 링커는 12~30개의 아미노산(예를 들어, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산)을 함유하는 아미노산 스페이서이다. 적합한 펩티드 스페이서는 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어, 글리신 및 세린과 같은 가요성 아미노산 잔기를 함유하는 펩티드 링커를 포함한다. 특정 구현예에서, 스페이서는 모티프, 예컨대 GS, GGS, GGGGS(서열 번호 1), GGSG(서열 번호 2) 또는 SGGG(서열 번호 3)의 다중 모티프 또는 반복 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GS, 예컨대, GS, GSGS(서열 번호 4), GSGSGS(서열 번호 5), GSGSGSGS(서열 번호 6), GSGSGSGSGS(서열 번호 7), 또는 GSGSGSGSGSGS(서열 번호 8)의 모티프를 포함하는 2 내지 12개의 아미노산을 함유할 수 있다. 특정 다른 구현예에서, 스페이서는 GGS, 예컨대, GGS, GGSGGS(서열 번호 9), GGSGSGGS(서열 번호 10) 및 GGSGSGSGGS(서열 번호 11)의 모티프를 포함하는 3 내지 12개의 아미노산을 함유할 수 있다. 또 다른 구현예에서, 스페이서는 GGSG(서열번호 2), 예컨대, GGSGGGSG(서열번호 12), GGSGGGSGGGSG(서열번호 13), GGSGGGSGGGSGGGSG(서열번호 14) 또는 GGSGGGSGGGSGGGSGGGSG(서열번호 15)의 모티프를 포함하는 4 내지 20개의 아미노산을 함유할 수 있다. 다른 구현예에서, 스페이서는 GGGGS(서열번호 1), 예컨대, GGGGSGGGS(서열번호 16) 또는GGGGSGGGSGGGGS(서열번호 17)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 SGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18)이다.

[0455] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 글리신 잔기만, 예컨대, 적어도 4개의 글리신 잔기(예컨대, 4~200개, 4~180개, 4~160개, 4~140개, 4~40개, 4~100개, 4~90개, 4~80개, 4~70개, 4~60개, 4~50개, 4~40개, 4~30개, 4~20개, 4~19개, 4~18개, 4~17개, 4~16개, 4~15개, 4~14개, 4~13개, 4~12개, 4~11개, 4~10개, 4~9개, 4~8개, 4~7개, 4~6개 또는 4~5개의 글리신 잔기) (예컨대, 4~200개, 6~200개, 8~200개, 10~200개, 12~200개, 14~200개, 16~200개, 18~200개, 20~200개, 30~200개, 40~200개, 50~200개, 60~200개, 70~200개, 80~200개, 90~200개, 100~200개, 120~200개, 140~200개, 160~200개, 180~200개 또는 190~200개의 글리신 잔기)를 함유한다. 특정 구현예에서, 스페이서는 4~30개의 글리신 잔기(예컨대, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 글리신 잔기)를 갖는다. 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 글리코실화되지 않을 수 있거나(예컨대, 0-연결 글리코실화(0-linked glycosylation), 0-글리코실화라고도 지칭됨), 예컨대 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 글리코실화 수준이 감소(예컨대, 0-글리코실화 수준의 감소)(예컨대, 자일로스, 만노스, 시알산, 푸코스(Fuc) 및/또는 갈락토스(Gal)(예컨대, 자일로스)와 같은 글리칸을 갖는 0-글리코실화 수준의 감소)될 수 있다.

[0456] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 0-글리코실화(예컨대, 0-자일로실화)되지 않을 수 있거나, 예를 들어 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 0-글리코실화 수준이 감소될 수 있다(예컨대, 0-자일로실화 수준의 감소).

- [0457] 일부 구현예에서, 글리신 잔기만 함유하는 스페이서는 단백질 분해를 겪지 않을 수 있거나 예컨대, 하나 이상의 세린 잔기(예컨대, SGGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열번호 18))를 함유하는 스페이서와 비교하여 단백질 분해율이 감소될 수 있다.
- [0458] 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGG(서열 번호 19), 예컨대, GGGGGGGG(서열 번호 20), GGGGGGGGGG(서열 번호 21), GGGGGGGGGGGG(서열 번호 22), 또는 GGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 23)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGG(서열번호 24), 예컨대, GGGGGGGG(서열번호 25) 또는 GGGGGGGGGGGG(서열번호 26)의 모티프를 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 스페이서는 GGGGGGGGGGGGGGGGGG(서열 번호 27)이다.
- [0459] 다른 구현예에서, 스페이서는 글리신 및 세린 외의 아미노산, 예를 들어 GENLYFQSGG(서열번호 28), SACYCELS(서열번호 29), RSIAT(서열번호 30), RPACKIPNDLKQKVMNH(서열번호 31), GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGS(서열번호 32), AAANSSIDLISVPVDSR(서열번호 33), 또는 GSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS(서열번호 34)를 또한 함유할 수 있다.
- [0460] 본 발명의 특정 구현예에서, 12- 또는 20-아미노산 펩티드 스페이서는 2개의 Fc 도메인 단량체를 직렬로 연결하는 데 사용되며, 12- 및 20-아미노산 펩티드 스페이서는 각각 서열 GGGSGGGSGGGS(서열 번호 35) 및 SGGSGGGSGGGSGGGSGGG(서열 번호 18)로 이루어진다. 다른 구현예에서, 서열 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS(서열번호 36)로 이루어진 18-아미노산 펩티드 스페이서가 사용될 수 있다.
- [0461] 일부 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 1~36 중 어느 하나의 서열에 적어도 75% 동일한(적어도 77%, 79%, 81%, 83%, 85%, 87%, 89%, 91%, 93%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 17, 18, 26 및 27 중 어느 하나의 서열에 적어도 80% 동일한(적어도 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다. 특정 구현예에서, 2개의 Fc 도메인 단량체 사이의 스페이서는 상술한 서열번호 18 또는 27 중 어느 하나의 서열에 적어도 80% 동일한(적어도 82%, 85%, 87%, 90%, 92%, 95%, 97%, 99% 또는 99.5% 동일한) 서열을 가질 수 있다.
- [0462] 특정 구현예에서, Fc 도메인 단량체의 힌지의 아미노 말단과 동일한 폴리펩티드에 있는 Fc 단량체의 카복시 말단 사이의 링커(즉, 제1 Fc 도메인 단량체의 C_H3 항체 불변 도메인의 C-말단을 제2 Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단에 연결하여, 2개의 Fc 도메인 단량체가 서로 직렬이 되도록 연결하는 링커)는 공유 결합이 아닌 3개 이상의 아미노산(예를 들어, 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200, 3~180, 3~160, 3~140, 3~120, 3~100, 3~90, 3~80, 3~70, 3~60, 3~50, 3~45, 3~40, 3~35, 3~30, 3~25, 3~20, 3~15, 3~10, 3~9, 3~8, 3~7, 3~6, 3~5, 3~4, 4~200, 5~200, 6~200, 7~200, 8~200, 9~200, 10~200, 15~200, 20~200, 25~200, 30~200, 35~200, 40~200, 45~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200 또는 180~200개의 아미노산)을 갖는 스페이서, 또는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200, 12~180, 12~160, 12~140, 12~120, 12~100, 12~90, 12~80, 12~70, 12~60, 12~50, 12~40, 12~30, 12~20, 12~19, 12~18, 12~17, 12~16, 12~15, 12~14 또는 12~13개의 아미노산)(예를 들어, 14~200, 16~200, 18~200, 20~200, 30~200, 40~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200, 180~200 또는 190~200개의 아미노산))을 함유하는 아미노산 스페이서이다.
- [0463] 스페이서는 또한, Fc 도메인 단량체의 힌지 도메인의 N-말단과 CD38 결합 도메인(예를 들어, CD38 중쇄 결합 도메인의 CH1 도메인 또는 CD38 경쇄 결합 도메인의 CL 도메인)의 카복시 말단 사이에 존재할 수 있어, 도메인들이 3개 이상 아미노산의 스페이서(예컨대, 3~200개의 아미노산(예를 들어, 3~200, 3~180, 3~160, 3~140, 3~120, 3~100, 3~90, 3~80, 3~70, 3~60, 3~50, 3~45, 3~40, 3~35, 3~30, 3~25, 3~20, 3~15, 3~10, 3~9, 3~8, 3~7, 3~6, 3~5, 3~4, 4~200, 5~200, 6~200, 7~200, 8~200, 9~200, 10~200, 15~200, 20~200, 25~200, 30~200, 35~200, 40~200, 45~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200, 또는 180~200개의 아미노산) 또는 적어도 12개의 아미노산, 예컨대 12~200개의 아미노산(예를 들어, 12~200, 12~180, 12~160, 12~140, 12~120, 12~100, 12~90, 12~80, 12~70, 12~60, 12~50, 12~40, 12~30, 12~20, 12~19, 12~18, 12~17, 12~16, 12~15, 12~14, 또는 12~13개의 아미노산)(예를 들어, 14~200, 16~200, 18~200, 20~200, 30~200, 40~200, 50~200, 60~200, 70~200, 80~200, 90~200, 100~200, 120~200, 140~200, 160~200, 180~200, 또는 190~200개의 아미노산)을 함유하는 아미노산 스페이서))에 의해 연결되도록 한다.

[0464] VIII. 혈청 단백질-결합 펩티드

- [0465] 혈청 단백질 펩티드에 대한 결합은 단백질 의약품의 약동학을 개선할 수 있으며, 특히 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 혈청 단백질-결합 펩티드와 융합될 수 있다.
- [0466] 일례로, 본원에 기재된 방법 및 조성물에서 사용될 수 있는 알부민-결합 펩티드는 당업계에 일반적으로 알려져 있다. 일 구현예에서, 알부민 결합 펩티드는 서열 DICLPRWGCLW(서열번호 37)을 포함한다. 일부 구현예에서, 알부민 결합 펩티드는 서열번호 37의 서열과 적어도 80% 동일한(예를 들어, 80%, 90% 또는 100% 동일한) 서열을 갖는다.
- [0467] 본 개시에서, 알부민-결합 펩티드는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 있는 특정 폴리펩티드의 N-말단 또는 C-말단에 부착될 수 있다. 일 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc 작제물에 있는 하나 이상의 폴리펩티드의 C-말단에 부착될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 CD38 결합 도메인을 함유하는 Fc 작제물에 있는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 암호화하는 폴리펩티드의 C-말단에 융합될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 알부민-결합 펩티드는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 암호화하는 폴리펩티드의 제2 Fc 도메인 단량체에 연결되는 Fc 도메인 단량체(예컨대, 도 1의 Fc 도메인 단량체(114 및 116); 도 2의 Fc 도메인 단량체(214 및 216))의 C-말단에 부착될 수 있다. 알부민-결합 펩티드는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 유전적으로 융합될 수 있거나, 또는 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 화학적 수단, 예컨대, 화학적 접합을 통해 부착될 수 있다. 원하는 경우, 스페이서는 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 알부민-결합 펩티드 사이에 삽입될 수 있다. 이론에 구속되지 않는 범위에서, 본 개시의 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 알부민-결합 펩티드를 포함시키면 혈청 알부민에 대한 결합을 통해 치료 단백질을 장기간 유지할 수 있을 것으로 예상된다.
- [0468] **IX. Fc-항원 결합 도메인 작제물**
- [0469] 일반적으로, 본 발명은 2~10개의 Fc 도메인 및 하나 이상의 부착된 CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특징으로 한다. 이들은 Fc 수용체, 예컨대, Fc γ RIIIa에 대한 단일 야생형 Fc 도메인보다 더 큰 결합 친화도 및/또는 결합성을 가질 수 있다. 본 개시 내용은 Fc 도메인의 2개의 Fc 도메인 단량체가 서로 선택적으로 이량체를 형성하여, 원치 않는 다량체 또는 응집의 형성을 방지하도록 2개의 상호작용하는 C_H3 항체 불변 도메인의 계면에서 아미노산을 유전자 조작하는 방법을 개시한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 짝수의 Fc 도메인 단량체를 포함하며, 각각의 Fc 도메인 단량체 쌍은 Fc 도메인을 형성한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 4개의 Fc 도메인 단량체의 이량체 및 1개의 CD38 결합 도메인으로 형성된 최소 2개의 작용성 Fc 도메인을 포함한다. CD38 결합 도메인은, 예를 들어, 링커, 스페이서, 펩티드 결합, 화학 결합 또는 화학 모이어티를 사용하여 Fc 도메인에 연결될 수 있다.
- [0470] Fc-항원 결합 도메인 작제물은 다양한 방식으로 조립될 수 있다. Fc-항원 결합 도메인 작제물은 비대칭 직렬 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있다(도 1~도 6). Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 N-말단 Fc 도메인에 있다(도 7~도 12). Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 C-말단 Fc 도메인에 있다(도 13~도 18). Fc-항원 결합 도메인 작제물은 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 조립될 수 있으며, 분지점은 N-말단 또는 C-말단 Fc 도메인에 있다(도 19~도 21).
- [0471] CD38 결합 도메인은 다양한 방식으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있다. CD38 결합 도메인은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있다. CD38 결합 Fab의 중쇄 성분은 Fc 사슬의 융합 단백질로 발현될 수 있고, 경쇄 성분은 별도의 폴리펩티드로 발현될 수 있다(도 50, 패널 A). 일부 구현예에서, scFv는 CD38 결합 도메인으로 사용된다. scFv는 Fc 장쇄의 융합 단백질로 발현될 수 있다(도 50, 패널 B). 일부 구현예에서, 중쇄 및 경쇄 성분은 개별적으로 발현되고 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 외인성으로 첨가된다. 일부 구현예에서, CD38 결합 도메인은 개별적으로 발현되어, 나중에 화학 결합으로 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결된다(도 50, 패널 C).
- [0472] 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 하나 이상의 Fc 폴리펩티드에는 C-말단 라이신 잔기가 결여되어 있다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 모든 Fc 폴리펩티드에는 C-말단 라이신 잔기가 결여되어 있다. 일부 구현예에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물의 하나 이상의 Fc 폴리펩티드에서의 C-말단 라이신의 부재는 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예를 들어, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)의 집단, 예컨대 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 균질한 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 집단의 균질성을 개선할 수 있다.
- [0473] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 제1, 제2, 제3, 제4, 제5, 또는 제6 폴리펩티드

중 하나 이상(예를 들어, 도 1의 폴리펩티드 102, 112, 및 114, 도 2의 202, 214, 216 및 218, 도 3의 302, 320 및 322, 도 4의 402, 428, 430 및 432, 도 5의 502, 524 및 526, 도 6의 602, 632, 634 및 636, 도 7의 702, 708, 722 및 724, 도 8의 802, 804, 826 및 828, 도 9의 902, 904, 934 및 936, 도 10의 1002, 1010, 1012, 1024, 1026 및 도 11의 1032, 1102, 1104, 1106, 1144, 1146 및 1148, 도 12의 1202, 1204, 1206, 1252, 1254 및 1256, 도 13의 1302, 1306 1320 및 1324, 도 14의 1402, 1404, 1426, 및 1428, 도 15의 1502, 1504, 1534 및 1536, 도 16의 1602, 1606, 1608, 1626, 1628 및 1632, 도 17의 1702, 1704, 1706, 1744, 1746 및 1748, 도 18의 1802, 1804, 1806, 1852, 1854 및 1856, 도 19의 1902, 1906, 1910, 1924, 1928 및 1932, 도 20의 2002, 2004, 2006, 2044, 2046 및 2048, 도 21의 2102, 2104, 2106, 2152, 2154 및 2156)의 N-말단 Asp는 Gln으로 돌연변이될 수 있다.

[0474] 본원의 실시예에 기재된 예시적인 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 경우, Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~21은 노브 및 홀 서브유닛에 각각 E357K 및 K370D 전하 쌍을 함유할 수 있다.

[0475] 본원에 기재된 예시적인 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예를 들어 Fc-항원 결합 도메인 작제물 1~21) 중 어느 하나는 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 비해 항체 의존성 세포독성(ADCC) 분석, 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 및/또는 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석에서 강화된 효과기 기능을 가질 수 있고, 단일 Fc 도메인 및 CD38 결합 도메인을 갖는 작제물에 의해 나타나지 않는 생물학적 활성을 포함할 수 있다.

[0476] **X. 숙주 세포 및 단백질 생산**

[0477] 본 개시 내용에서, 숙주 세포는 본원에 기재된 폴리펩티드 및 작제물을 이의 상응하는 핵산으로부터 발현하는데 필요한 필수 세포 성분, 예컨대, 세포 기관을 포함하는 비히클을 지칭한다. 핵산은 당업계에 공지된 종래 기술(형질전환, 형질감염, 전기 친공법, 인산칼슘 침전, 직접 미세현미주입 등)에 의해 숙주 세포에 도입될 수 있는 핵산 벡터에 포함될 수 있다. 숙주 세포는 포유류, 세균, 진균 또는 곤충 기원 중 하나일 수 있다. 포유류 숙주 세포는 CHO(또는 CHO-유래 세포주, 예컨대, CHO-K1, CHO-DXB11 CHO-DG44), 쥐 숙주 세포(예컨대, NS0, Sp2/0), VERY, HEK (예컨대, HEK293), BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, CRL7030 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 단백질 작제물의 발현을 조절하거나, 원하는 특정 방식으로 단백질 산물을 변형하고 처리하는 숙주 세포가 또한 선택될 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 산물의 변형후 처리 및 변형을 위한 특징과 특정 매커니즘을 갖는다. 발현된 단백질의 올바른 변형 및 처리를 보장하기 위해 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다.

[0478] 상응하는 DNA 플라스미드 작제물에서 단백질 산물의 발현 및 분비를 위해, 숙주 세포는 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 및 선별 마커를 포함하여, 당업계에 알려진 적절한 발현 조절 요소에 의해 조절된 DNA로 형질 감염되거나 형질 전환될 수 있다. 치료 단백질의 발현 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) *Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 2nd ed. 2004 edition (July 20, 2004)]; 문헌[Vladimir Voynov and Justin A. Caravella (eds.) *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 2nd ed. 2012 edition (June 28, 2012)]을 참조한다.

[0479] **XI. 탈푸코실화**

[0480] 각 Fc 단량체는 Asn 297에 N-글리코실화 부위를 포함한다. 글리칸은 주어진 Fc 단량체에서 다수의 상이한 형태로 존재할 수 있다. 본원에 기재된 항원-결합 Fc 작제물 또는 항체 함유 조성물에서, 글리칸은 꽤 이종성일 수 있으며, 존재하는 글리칸의 성질은, 무엇보다도, 항체 또는 항원-결합 Fc 작제물을 생산하기 위해 사용되는 세포 유형, 세포의 성장 조건(성장 배지 포함) 및 생산후 정제에 따라 달라질 수 있다. 다양한 경우에, 본원에 기재된 작제물 또는 폴리펩티드 복합체 또는 폴리펩티드를 함유하는 조성물은 적어도 어느 정도까지는 탈푸코실화된다. 예를 들어, 조성물에 존재하는 글리칸(예를 들어, Fc 글리칸)의 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 95%에는 푸코스 잔기가 결여되어 있다. 따라서, 5%~60%, 5%~50%, 5%~40%, 10%~50%, 10%~50%, 10%~40%, 20%~50% 또는 20%~40%의 글리칸에는 푸코스 잔기가 결여되어 있다. 적어도 어느 정도 탈푸코실화된 조성물은 1,3,4-Tri-O-아세틸-2-데옥시-2-플루오로-L-푸코스 역체제의 존재 하에 항체를 생산하는 세포를 배양하여 생산될 수 있다. 본원에 기재된 작제물 및 폴리펩티드의 상대적으로 탈푸코실화된 형태는 FUT8의 발현이 감소되거나 없는 세포에서의 발현(예를 들어, FUT8을 녹아웃하거나 또는 RNAi(siRNA, miRNA 또는 shRNA)을 사용한 발현의 감소에 의해) 및 베타-1,4-만노실-당단백질 4-베타-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제(GnT-III)를 과발현하는 세포에서의 발현을 포함하는 다양한 다른 방법을 사용하여 생산될 수 있다.

[0481] XII. 정제

[0482] Fc-항원 결합 도메인 작제물은, 예를 들어, 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환, 친화(예컨대, 단백질 A 친화) 및 크기-배제 컬럼 크로마토그래피), 원심 분리, 용해도 차이 또는 단백질 정제를 위한 임의의 기타 표준 기술 등 단백질 정제 분야에 공지된 임의의 방법으로 정제될 수 있다. 예를 들어, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 크로마토그래피 컬럼, 여과, 한외여과, 염석 및 투석 절차(예컨대, 문헌[*Process Scale Purification of Antibodies*, Uwe Gottschalk (ed.) John Wiley & Sons, Inc., 2009]; 및 문헌[*Subramanian (ed.) Antibodies-Volume I-Production and Purification*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2004)] 참조)로 단백질 A 컬럼과 같은 친화 컬럼을 적절하게 선택하고 결합함으로써 분리되고 정제될 수 있다.

[0483] 일부 경우에, Fc-항원 결합 도메인 작제물은, 예를 들어 전체 세포 용해 혼합물로부터 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 용이하게 정제하고 분리하기 위해 하나 이상의 정제 펩티드에 접합될 수 있다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드는 정제 펩티드에 특이적 친화도를 갖는 다른 모이어티에 결합한다. 일부 구현예에서, 정제 펩티드에 특이적으로 결합하는 이러한 모이어티는 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드와 같은 고정 지지체에 부착된다. Fc-항원 결합 도메인 작제물에 연결될 수 있는 정제 펩티드의 예는 헥사-히스티딘 펩티드, FLAG 펩티드, myc 펩티드, 및 혈구응집소(HA) 펩티드를 포함하나, 이에 한정되지 않는다. 헥사-히스티딘 펩티드(HHHHHH(서열번호 38))는 마이크로볼 친화도로 니켈-작용화된 아가로스 친화성 컬럼에 결합한다. 일부 구현예에서, FLAG 펩티드는 서열 DYKDDDDK(서열번호 39)를 포함한다. 일부 구현예에서, FLAG 펩티드는 직렬로 서열 DYKDDDDK의 정수 배수, 예컨대, 3x DYKDDDDK를 포함한다. 일부 구현예에서, myc 펩티드는 서열 EQKLISEEDL(서열번호 40)을 포함한다. 일부 구현예에서, myc 펩티드는 직렬로 서열 EQKLISEEDL의 정수 배수, 예컨대, 3xEQKLISEEDL을 포함한다. 일부 구현예에서, HA 펩티드는 서열 YPYDVPDYA(서열번호 41)를 포함한다. 일부 구현예에서, HA 펩티드는 직렬로 서열 YPYDVPDYA의 정수 배수, 예컨대, 3xYPYDVPDYA를 포함한다. FLAG, myc, 또는 HA 정제 펩티드를 특이적으로 인식하여 이에 결합하는 항체는 당업계에서 잘 알려져 있으며, 종종 시판된다. 이들 항체와 작용화된 고정 지지체(예컨대, 매트릭스, 수지 또는 아가로스 비드)는 FLAG, myc 또는 HA 펩티드를 포함하는 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 정제하는 데 사용될 수 있다.

[0484] Fc-항원 결합 도메인 작제물의 경우, 단백질 A 컬럼 크로마토그래피가 정제 과정으로 이용될 수 있다. 단백질 A 리간드는 Fc 영역을 통해 Fc-항원 결합 도메인 작제물과 상호작용하여, 단백질 A 크로마토그래피를 숙주 세포 단백질의 대부분을 제거할 수 있는 고도의 선별 포획 과정으로 만든다. 본 개시에서, Fc-항원 결합 도메인 작제물은 실시예 2에 기재된 단백질 A 컬럼 크로마토그래피를 사용하여 정제될 수 있다.

[0485] XIII. 약학 조성물/제제

[0486] 본 개시 내용은 본원에 기재된 하나 이상의 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 포함하는 약학 조성물을 특징으로 한다. 일 구현예에서, 약학 조성물은 구조가 동일하거나 실질적으로 균질한 Fc-항원 결합 도메인 작제물의 실질적으로 균질한 집단을 포함한다. 다양한 실시예에서, 약학 조성물은 Fc-항원 결합 도메인 작제물 1-42 중 어느 하나의 실질적으로 균질한 집단을 포함한다.

[0487] 본 개시 내용의 치료 단백질 작제물, 예컨대, 본원에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물(예컨대, 3개의 Fc 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물)은 약학 조성물에 혼합될 수 있다. 치료 단백질을 포함하는 약학 조성물은 당업자에게 공지된 방법으로 제형화될 수 있다. 약학 조성물은 물 또는 또 다른 약학적으로 허용 가능한 액체에 멸균 용액 또는 현탁액을 포함하는 주사 가능한 제형의 형태로 비경구 투여될 수 있다. 예를 들어, 약학 조성물은 주사용 멸균수(WFI), 생리 식염수, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정화제, 희석제, 결합제, 부형제와 같은 약학적으로 허용 가능한 비히클 또는 매질과 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 적합하게 배합한 다음, 일반적으로 허용되는 제약 관행에서 필요한 단위 용량 형태로 혼합함으로써 제형화될 수 있다. 약제(pharmaceutical preparation)에 포함된 유효 성분의 양은 지정된 범위 내에서 제공되는 적합한 용량이다.

[0488] 주사용 멸균 조성물은 비히클로서 주사용 증류수를 사용하여 통상적인 제약 관행에 따라 제형화될 수 있다. 예를 들어, 생리 식염수 또는 글루코스 및 D-소비톨, D-만노스, D-만니톨 및 염화나트륨과 같은 기타 보충제를 함유하는 등장액은 선택적으로 통상 당업계에 공지되어 있는 적합한 안정화제, 예를 들어, 에탄올과 같은 알코올 및 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜과 같은 다가알코올, 및 폴리소르베이트 80TM, HCO-50과 같은 비이온성 계면활성제 등과 조합하여 주사용 수용액으로 사용될 수 있다. 치료 단백질 산물을 위한 제형화 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예컨대, 문헌[Banga (ed.) *Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing and Delivery Systems* (2d ed.) Taylor & Francis Group, CRC Press (2006)]을 참조한다.

[0489] **XIV. 치료 방법 및 투여량**

[0490] 본원에 기술된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 다양한 암(예를 들어, 혈액암 및 고형 종양) 및 자가면역 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0491] 암은 다라투루맵 또는 임의의 다른 치료적 항-CD38 단일클론 항체 치료에 내성인 암일 수 있다. 암은 위암, 유방암, 결장암, 폐암, 외투 세포 림프종, 급성 림프 아구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, NK 세포 백혈병, NK/T 세포 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 형질 세포 백혈병 및 다발성 골수종으로부터 선택될 수 있다. 작제물은 또한 다음을 치료하는 데 사용될 수 있다: 아밀로이드 경색 아밀로이드증, 캐슬만병(Castleman's disease), 의미 불명 단클론성 감마글로불린병증(MGUS), 의미불명 이클론성 감마글로불린병증, 중쇄 질환, 고립성 형질세포종, 골수외 형질세포종. 일부 경우에, 작제물은 예방 및/또는 치료 백신 효과의 면역 복합체 매개 유도에 의해 암 세포에 대한 면역 조절 기능을 증가시키는 데 사용될 수 있다.

[0492] 작제물은 또한 다음과 같은 형질 세포 질환 또는 단클론성 감마글로불린병증을 치료하는 데 사용될 수 있다: 경색 침착증, 막성증식성신염(MGRS), 자가면역성용혈성빈혈, TEMPI 증후군(모세혈관확장증-적혈구증가증-단클론성 감마글로불린병증 신장주위-체액축적-폐내 선택; Telangiectasia-Erythrocytosis-Monoclonal Gammopathy Perinephric-Fluid Collections-Intrapulmonary Shunting), 류마티스성 관절염, 홍반루푸스 POEMS 증후군(다발성 신경병증-장기종대-내분비병증-단클론성 혈장 증식성장애-피부질환; Polyneuropathy-Organomegaly-Endocrinopathy-Monoclonal plasmaproliferative disorder-Skin) 및 발덴스트롬 거대글로불린혈증(Waldenstrom Macroglobulinemia).

[0493] 작제물은 다음과 같은 자가 항체 매개 질병을 치료하는 데 사용될 수 있다: 중증 근무력증(Myasthenia Gravis; MG), MuSK-MG, 심근염, 램버트 이톤(Lambert Eaton) 근육 무기력 증후군, 신경근육긴장증, 시신경척수염, 기면증, 급성 운동 축색 돌기 신경병증, 길랭-바레(Guillain-Barré) 증후군, 휘셔(Fisher) 증후군, 급성 감각실조 신경병증, 부수종양성 강직인간(Paraneoplastic Stiff Person) 증후군, 만성 신경병증, 말초성 신경병증, 급성 산재성뇌척수염, 다발성 경화증, 굿파스처 증후군(Goodpasture Syndrome), 막성신장병, 사구체신염, 폐포단백증, CIPD, 자가면역성용혈성빈혈, 자가면역혈소판감소성자반증, 심상성천포창, 낙엽상천포창, 수포성 유사천포창, 임신유신성 천포창(pemphigoid gestationis), 후천성 수포성 포피박리증, 신생아 홍반성 낭창, 포진형 피부염, 그레이브스병(Graves Disease), 에디슨병(Addison's Disease), 난소기능부전증, 자가면역 고환염, 쇼그렌증후군(Sjogren's Disease), 자가면역성 위축성위염, 류마티스 관절염, SLE, 안구건조증, 혈관염(급성), 심장염 및 항체 매개성 거부반응(Antibody-mediated rejection).

[0494] 약학 조성물은 투약 제형과 양립 가능한 방식으로 투여되고, 증상을 개선하거나 치료하는 치료 유효량과 같은 양으로 투여된다. 약학 조성물은 다양한 투약 형태, 예컨대 정맥내 투약 형태, 피하 투약 형태, 경구 투약 형태, 예컨대 섭취 가능 용액, 약물 방출 캡슐 등으로 투여된다. 개별 대상에 대한 적절한 투여량은 치료 목적, 투여 경로 및 환자의 상태에 따라 다르다. 일반적으로, 제조합 단백질은 1~200 mg/kg, 예컨대, 1~100 mg/kg, 예컨대, 20~100 mg/kg으로 투여된다. 따라서, 최적의 치료 효과를 얻기 위해 의료 제공자는 필요에 따라 투여량을 조정하고 적정하며 투여 경로를 수정해야 할 것이다.

[0495] 인간을 치료하는 것 외에도, 작제물을 사용하여 개와 고양이 같은 반려 동물뿐만 아니라 다른 수의과적인 대상을 치료할 수 있다.

[0496] **XV. 보체 의존성 세포독성(CDC)**

[0497] 본 발명에 기재된 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 여러 가지 Fc 수용체 매개 효과기 기능을 활성화할 수 있다. 항체와 식세포가 외부 병원체를 제거하는 능력을 강화하는 선천 면역계의 일부인 보체 의존성 세포독성(CDC) 시스템은 면역계의 한 구성 요소이다. 3가지 생화학적 경로, 즉 고전 보체 경로, 대체 보체 경로, 및 렉틴 경로는 보체계를 활성화하며, 이들 모두는 일련의 복합체 활성화 및 신호전달 캐스케이드를 수반한다.

[0498] 고전 보체 경로에서, IgG 또는 IgM은 보체 활성화를 유발한다. C1q 단백질은 항원에 결합한 후 이들 항체에 결합하여 C1 복합체를 형성한다. 이러한 복합체는 C1s 에스테라제를 생성하는데, 이는 C4 및 C2 단백질을 C4a 및 C4b, 그리고 C2a 및 C2b로 절단하여 활성화한다. 이어서, C2a 및 C4b 단편은 C3 전환효소로 불리는 단백질 복합체를 형성하며, 이는 C3을 C3a 및 C3b로 절단하여, 신호 증폭 및 막 공격 복합체의 형성을 유도한다.

[0499] 본 발명의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 면역계에 의해 CDC 활성을 강화할 수 있다.

[0500] CDC는 Raji 세포(ATCC)를 연속 희석된 항체, Fc-항원 결합 도메인 작제물, 또는 IVIg로 코팅하는 비색 분석법을

사용하여 평가될 수 있다. 인간 혈청 보체(Quidel)를 25% v/v로 모든 웰에 첨가하고, 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션할 수 있다. WST-1 세포 증식 시약(Roche Applied Science)을 첨가한 후 세포를 37°C에서 12시간 동안 인큐베이션할 수 있다. 그런 다음, 플레이트를 2분간 진탕기에 놓고, 450 nm에서 흡광도를 측정할 수 있다.

[0501] **XVI. 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)**

[0502] 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 또한 면역계에 의해 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성을 강화할 수 있다. ADCC는 항체가 외부 병원체의 표면 항원과 결합하여 그들을 사멸의 표적으로 하는 적응 면역계의 일부이다. ADCC는 항체에 의한 자연 살해(NK) 세포의 활성화를 수반한다. NK 세포는 항체, 예컨대 IgG 및 IgM의 Fc 부분에 결합하는 Fc 수용체를 발현한다. 항체가 병원체에 감염된 표적 세포의 표면에 결합되면 이후에 NK 세포와 결합하여 이를 활성화한다. NK 세포는 IFN- γ 와 같은 사이토카인과 퍼포린 및 그랜자임과 같은 단백질을 방출한다. 퍼포린은 칼슘의 존재 하에 올리고머화되는 기공 형성 세포용해소이다. 그랜자임은 표적 세포에서 프로그래밍된 세포 사멸을 유도하는 세린 프로테아제이다. NK 세포 외에, 대식세포, 호중구 및 호산구도 ADCC를 매개할 수 있다.

[0503] ADCC를 발광 분석을 사용하여 평가할 수 있다. 인간 1차 NK 효과기 세포(Hemacare)를 해동하고 37°C에서 하룻밤 동안 5×10^5 개의/mL의 림프구 성장 배지-3(Lonza)에 정치시킨다. 다음날, 인간 림프아구성 세포주 Raji 표적 세포(ATCC CCL-86)를 회수하고, 분석 배지(페놀 레드 무함유 RPMI, 10% FBS Δ , GlutaMAXTM)에 재현탁하고, 다양한 농도의 목적 프로브 각각의 존재 하에 37°C에서 30분 동안 평판 배양하였다. 이어서, 정치시킨 NK 세포를 회수하고, 분석 배지에 재현탁하고, 항-CD20 코팅된 Raji 세포를 함유하는 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 효과기-대-표적 세포의 최종 비율이 5:1(5×10^4 개의 NK 세포: 1×10^4 개의 Raji)가 되도록 37°C에서 6시간 동안 인큐베이션한다.

[0504] CytoTox-GloTM 세포독성 분석 키트(Promega)를 사용하여 ADCC 활성을 결정한다. CytoTox-GloTM 분석은 발광성 펩티드 기질을 사용하여, 막 무결성을 상실한 세포, 예를 들어 용해된 Raji 세포에 의해 방출된 죽은 세포 프로테아제 활성을 측정한다. 6시간 인큐베이션한 후, 준비한 시약(기질)을 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 실온에서 15분 동안 오비탈 플레이트 진탕기에 넣었다. 발광을 PHERAstar F5 플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 측정한다. 백그라운드를 제거하기 위해 대조 조건(NK 세포 + Raji만 해당)의 판독치를 시험 조건에서 뺀 후 데이터를 분석한다.

[0505] **XV. 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP)**

[0506] 본 개시 내용의 Fc-항원 결합 도메인 작제물은 또한 면역계에 의해 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 활성을 강화할 수 있다. 항체 흡수작용으로도 알려진 ADCP는 병원체가 식세포에 의해 섭취되어 제거되도록 표시되는 과정이다. 식세포는 유해한 외래 병원체와 죽거나 죽어가는 세포를 섭취하여 신체를 보호하는 세포이다. 이 과정은 병원체-관련 분자 패턴(PAMPs)에 의해 활성화되어 NF- κ B 활성화로 이어진다. 이어서, C3b 및 항체와 같은 흡수인은 표적 병원체에 부착할 수 있다. 표적이 흡수인에 코팅되면 Fc 도메인은 Fc 수용체를 통해 식세포를 유인한다. 이어서, 식세포가 세포를 삼키고, 섭취된 물질의 포식소체(phagosome)는 리소좀과 융합된다. 이어서, 후속하는 파고리소좀(phagolysosome)은 세포성 물질을 단백질 분해로 소화시킨다.

[0507] ADCP는 생물발광 분석을 사용하여 평가할 수 있다. 항체 의존성 세포-매개 식균작용(ADCP)은 치료 항체의 중요한 작용 매커니즘이다. ADCP는 Fc γ RIIa(CD32a), Fc γ RI(CD64) 및 Fc γ RIIIa(CD16a)를 통해 단핵구, 대식세포, 호중구 및 수지상 세포에 의해 매개될 수 있다. 3가지 수용체는 모두 항체 인식, 면역 수용체 클러스터링 및 ADCP를 유발하는 신호전달에 참여할 수 있지만, 차단 연구는 Fc γ RIIa가 이러한 과정에 관여하는 주요 Fc γ 수용체임을 시사한다.

[0508] Fc γ RIIa-H ADCP 리포터 생물검정은 Fc γ RIIa에 특이적으로 결합하여 이를 활성화하는 Fc 도메인을 사용하여 항체 및 다른 생물 제제의 효능과 안정성을 측정하는 데 사용할 수 있는 생물발광 세포 기반 분석이다. 이러한 분석은 아미노산 131에 히스티딘(H)을 함유하는 고친화도 인간 Fc γ RIIa-H 변이체를 발현하는 유전자 조작 Jurkat T 세포주 및 NFAT-반응 요소(NFAT-RE)에 의해 유도되는 루시페라제 리포터로 구성된다.

[0509] 표적 세포 및 관련 항체와 공배양하는 경우, Fc γ RIIa-H 효과기 세포는 항체의 Fc 도메인에 결합하여 Fc γ RIIa 신호전달 및 NFAT-RE 매개 루시페라제 활성을 유발한다. 생물발광 신호는 루시페라제 분석과 표준 발광 측정기를 사용하여 검출되고 정량화된다.

[0510] **실시예**

[0511] 하기 실시예는 본원에 청구된 방법 및 화합물을 수행하고, 제조하고, 평가하는 방법의 완전한 개시 및 설명을 당업자에게 제공하기 위해 기재되며, 본 개시 내용의 온전히 예시를 위한 것으로, 본 발명자들이 개시 내용으로 간주하는 범위를 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0512] 실시예 1. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 7의 설계 및 정제

[0513] 단백질 발현

[0514] Fc-항원 결합 도메인 작제물은 폴딩 효율을 증가시키고, 원치 않는 고분자량의 올리고머 및 다량체를 생성할 수 있는 서브유닛의 제어되지 않은 결합을 최소화하며, 실질적으로 균질한(예를 들어, 적어도 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동질인) 제약적 용도를 위한 조성물을 생성하도록 설계된다. 이러한 목표를 고려하여, 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 7(CD38)은 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(항-CD38 Fc 장쇄(서열 번호 ZZ1)의 2개의 카피, 및 Fc 단쇄(서열 번호 ZZ2)의 2개의 카피) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 ZZ3)의 2개의 카피를 각각 포함한다. Fc 장쇄는 (동중이량체화를 촉진하기 위한) 전하-돌연변이된(K409D/D399K 돌연변이) Fc 도메인 단량체 및 N-말단에서의 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)과 함께 직렬로 연결된 E357K 전하 돌연변이 및 (이중이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다 (작제물 7(CD38)). Fc 단쇄는 K370D 전하 돌연변이 및 (이중이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 항-CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. 표 7의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드 및 Fc 단쇄를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화한다.

표 5

[0515]

작제물 7(CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)	Fc 단쇄
작제물 7 (CD38)	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASN RATGIPARFSGSGSGTDFLT I SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGF TFDDYGMSSWRQAPGKLEWVSDIS WNGGKTHYVDSVKGQFTI SRDNSKN TLYLQMNLSLRAEDTAVYYCARGSLF HDSSGFYFGHWGGTLVTSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK PKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLKSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGN VFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	서열 번호 DKHTCPCPPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVD GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP G

- [0516] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한 다음, 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분획한다. 정제한 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.
- [0517] **실시예 2. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 13의 설계 및 정제**
- [0518] *단백질 발현*
- [0519] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 13(CD38) 각각은 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(항-CD38 Fc 장쇄(서열 번호 ZZ중 어느 하나)의 2개의 카피, 및 Fc 단쇄(서열 번호 ZZ)의 2개의 카피) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 ZZ)의 2개의 카피를 포함한다. Fc 장쇄는 E357K 전하 돌연변이 및 (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된 (동종이량체화를 촉진하기 위한) 전하-돌연변이된(K409D/D399K 돌연변이) Fc 도메인 단량체를 함유하고, 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)을 N-말단에 함유한다 (작제물 13(CD38)). Fc 단쇄는 K370D 전하 돌연변이 및 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 항-CD38 경쇄 및 항-CD38 VH와 CH1은 항-CD38 단일클론 항체로부터 취한 것이다. 이러한 경쇄 및 항-CD38 VH와 CH1을 갖는 작제물은 약어 CD38로 나타낸다. 사이노몰구스 원숭이에 의해 발현되는 CD38과 교차 반응하는 완전 인간 단일클론 항체로부터 취한 항-CD38 경쇄 및 항-CD38 VH와 CH1을 사용하여 관련 작제물을 생산할 수 있다. 이러한 작제물은 약어 사이노로 나타낸다. CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. 작제물 13의 다른 버전은 항-CD38 중쇄로 제조될 수 있으며, 여기서 각각의 버전은 Fc 장쇄 폴리펩티드 내의 Fc 도메인 단량체 사이에 상이한 크기의 글리신 스페이서(G4, G10, G15 또는 G20 링커)를 갖는다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. 다음의 작제물 각각에 대한 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드 및 Fc 단쇄를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화하였다.

표 6

작제물 13 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1)	Fc 단쇄
작제물 13 (CD38), 링커 S3Y- CD38	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYDASNRTGIPARFSGSG SGTDFTLTISSELEDFAVYYC QQRSNWPPPTFGQGTKVEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSC AVSGFTFNSFAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGGGTYADSVKQ RFTISRDNKNTLYLQMNSLRA EDTAVYFCAKDKILWFGEPIVD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKTHTCPPCPAP ELLGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDKSDGSFFLYS DLTVDKSRWQQGNVSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	서열 번호 DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVDGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVSCSVMHEALHNHYTQK LSLSPG

[0520]

작제물 13 (CD38), G ₂₀ 링커 S3Y-사 이노-001	서열 번호 QSVLTQPPSASGTPGQRVTISC SGSSSNIGDNYVSWYQLPGTA PKLLIYRDSQRPSGVPDRFSGS KSGTSASLAISGLRSEDEADYY CQSYDSSLSGSVFSGGKLTVL GQPKANPTVTLFPPSSEELQAN KATLVCLISDFYPGAVTVAWKA DGSPVKAGVETTKPSKQSNKY AASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	서열 번호 QLLESGGGLVQPGGSLRLSCAA SGFTFDDYGMWVRQAPGKGLE WVSDISWNGGKTHYVDSVKGF TISRDNKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCARGSLFHDSSGFYFGH WGQGLTVTVSSASTKGPSVPPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTPPA VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRV PKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHY TQKLSLSLSPGKGGGGGGGGGG GGGGGGGGDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQ REPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLSKDSGFFLYSD LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEA LHNHYTQKLSLSLSPG	서열 번호 DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTIKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVDGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSGGSFFLVSKLTVDKSRWQ QGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
---	--	---	--

[0521]

[0522]

발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼크로마토그 래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한 후, 정제한 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통 해 멸균 여과하였다.

[0523]

실시예 3. Fc-항원 결합 도메인 작제물 1의 설계 및 정제

[0524]

비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 비분지형 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 1(도 1)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티 드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체(각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적 어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 (이종이량체화를 촉진하기 위한) 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨 대, E357K)를 가짐), 및 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. CD38 결합 도메인은 (예를 들어, scFv를 형성 하기 위해) Fc 장쇄와 동일한 아미노산 서열의 일부로서 발현될 수 있다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하 나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 (이종이량체화를 촉진하기 위한) 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질 주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 본 실시예에 서, 그리고 Fc-항원 결합 도메인 작제물 2~42에 대한 하기 실시예 각각에서, 세포는 항체 가변 경쇄를 발현하는 제3 플라스미드를 함유할 수 있다.

[0525]

발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그 래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 인산염 완충 식염수로 세척하고(저염 세척) pH 3, 100 mM 글리신으로 용리한다. 용리액을 1 M TRIS(pH 7.4)의 첨가로 빠르게 중화하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과한다. 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교

환 크로마토그래피에 의해 추가로 분리한다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고 샘플을 용리 완충액으로서 50 mM MES, 400 mM 염화나트륨, pH 6(완충액 B)을 사용하여 단계 구배로 용리한다. 이온 교환 후에, 표적 분획물을 접선 유동 여과 시스템 상에서 10 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 PBS 완충액으로 완충액 교환한다. 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0526] 샘플을 95°C에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시킨다. Criterion TGX 무착색 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘린다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루 염색으로 눈에 보이게 한다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화한다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드의 정량화를 수행한다.

[0527] **실시예 4. Fc-항원 결합 도메인 작제물 2의 설계 및 정제**

[0528] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 비분지형 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 2(도 2)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 3개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인과 직렬 연결된 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 여기서 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0529] **실시예 5. Fc-항원 결합 도메인 작제물 3의 설계 및 정제**

[0530] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 3(도 3)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 여기서 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0531] **실시예 6. Fc-항원 결합 도메인 작제물 4의 설계 및 정제**

[0532] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 4(도 4)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 3개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 연결된 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 여기서 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0533] **실시예 7. Fc-항원 결합 도메인 작제물 5의 설계 및 정제**

[0534] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 5(도 5)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함

한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인과 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하되, 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0535] 실시예 8. Fc-항원 결합 도메인 작제물 6의 설계 및 정제

[0536] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 6(도 6)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄 및 3개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단의 CD38 결합 도메인과 직렬로 연결된 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하되, 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A, 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0537] 실시예 9. Fc-항원 결합 도메인 작제물 7의 설계 및 정제

[0538] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 7(도 7)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 이는 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0539] 실시예 10. Fc-항원 결합 도메인 작제물 8의 설계 및 정제

[0540] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 8(도 8)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결되고 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열

은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0541] 실시예 11. Fc-항원 결합 도메인 작제물 9의 설계 및 정제

[0542] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로부터 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 9(도 9)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 이는 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0543] 실시예 12. Fc-항원 결합 도메인 작제물 10의 설계 및 정제

[0544] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 10(도 10)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 가지며, 표 4A 또는 4B로부터 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체 및 CD38 결합 도메인과 N-말단에서 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0545] 실시예 13. Fc-항원 결합 도메인 작제물 11의 설계 및 정제

[0546] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 11(도 11)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 가지며, 표 4A 또는 4B로부터 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 N-말단에서 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 항원 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0547] 실시예 14. Fc-항원 결합 도메인 작제물 12의 설계 및 정제

[0548] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 12(도 12)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유

하며, 각각의 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 가지며, 표 4A 또는 4B로부터 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체 및 CD38 결합 도메인과 N-말단에서 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 항원 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0549] 실시예 15. Fc-항원 결합 도메인 작제물 13의 설계 및 정제

[0550] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 13(도 13)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0551] 실시예 16. Fc-항원 결합 도메인 작제물 14의 설계 및 정제

[0552] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 14(도 14)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 N-말단에서 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0553] 실시예 17. Fc-항원 결합 도메인 작제물 15의 설계 및 정제

[0554] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 15(도 15)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 2개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도

메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0555] 실시예 18. Fc-항원 결합 도메인 작제물 16의 설계 및 정제

[0556] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 16(도 16)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0557] 실시예 19. Fc-항원 결합 도메인 작제물 17의 설계 및 정제

[0558] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 17(도 17)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체와 N-말단에서 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0559] 실시예 20. Fc-항원 결합 도메인 작제물 18의 설계 및 정제

[0560] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 18(도 18)은 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, Fc 도메인 단량체는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및, 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 2개의 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0561] 실시예 21. Fc-항원 결합 도메인 작제물 19의 설계 및 정제

[0562] 분지점이 N-말단 또는 C-말단 Fc 도메인에 없는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 19(도 19)는 2개의 별개의 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결되고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 또 다른 Fc 도메인 단량체를 함유한다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및, 선택적으로, 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0563] **실시예 22. Fc-항원 결합 도메인 작제물 20의 설계 및 정제**

[0564] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 20(도 20)은 2개의 별개 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄의 2개의 카피 및 Fc 단쇄의 4개의 카피) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결되고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 또 다른 Fc 도메인 단량체를 N-말단에 함유한다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0565] **실시예 23. Fc-항원 결합 도메인 작제물 21의 설계 및 정제**

[0566] 분지점이 C-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 21(도 21)은 2개의 별개 Fc 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄 및 4개 카피의 Fc 단쇄) 및 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. Fc 장쇄는, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유하고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 표 4A 또는 4B에서 선택된 역전하 돌연변이(예컨대, K409D/D399K 돌연변이)를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결되고, 표 3에서 선택된 적어도 하나의 돌출부-형성 돌연변이(예컨대, S354C 및 T366W 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 돌출부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, E357K)를 갖는 또 다른 Fc 도메인 단량체를 함유한다. Fc 단쇄는 표 3에서 선택된 적어도 하나의 함몰부-형성 돌연변이(예컨대, Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 돌연변이)를 도입하여 만들어진 유전자 조작 함몰부 및 선택적으로 표 4A 또는 4B에서 선택된 하나 이상의 역전하 돌연변이(예컨대, K370D)를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 CD38 결합 도메인을 함유한다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. Fc 단쇄 및 Fc 장쇄에 대한 아미노산 서열은 2개의 개별 플라스미드에 의해 암호화된다. 발현된 단백질은 실시예 3에서와 같이 정제된다.

[0567] **실시예 24. Fc-항원 결합 도메인 작제물에 의한 CDC, ADCP 및 ADCC 활성화**

- [0568] 세 가지 분석을 사용하여 모 mAb 및 다양한 Fc-항원 결합 도메인 작제물에 의한 CDC, ADCP 및 ADCC 경로의 활성화 시험한다. Gazyva(오비누투주맵)로부터의 CDR, 항-CD20 mAb를 함유하는 4개의 작제물을 생성하였다. 푸코 실화 및 탈푸코실화 항-CD20 모두를 제조했을 뿐 아니라, S3Y-AA-CD20(작제물 13의 구조, 도 13, 실시예 2에 기재된 바와 같음,) 및 S3Y-AA-CD20(작제물 7의 구조, 도 7, 실시예 1에 기재된 바와 같음) Fc-항원 결합 도메인 작제물을 제조하였다.
- [0569] CDC 분석을 다음과 같이 수행한다:
- [0570] 1. 항-CD20 CDC 분석에 사용된 표적 세포는 Raji 세포(ATCC CCL-86)이다. Raji 세포(CD20 발현 종양 세포)를 X-VIVO 15 배지에서 6×10^5 개의 세포/ml로 재현탁하였다. 이어서, 세포를 웰당 $100 \mu\text{l}$ (6×10^4 개의 세포/웰)의 부피로 96 웰 평평한 바닥 분석 플레이트로 옮겼다.
- [0571] 2. 항-CD20 mAbs 및 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 X-VIVO 15 배지에서 $3.33 \mu\text{M}$ 로 희석하였다. 이어서, 1.5 ml의 폴리프로필렌 튜브에서 각각의 분자로 일련의 1:3 희석을 수행하여 11 포인트의 연속 희석을 생성하였다.
- [0572] 3. 분자의 희석액을 각각 $50 \mu\text{l}$ /웰로 분석 플레이트의 적절한 웰로 옮겼다. 분석 플레이트로 옮긴 직후, $50 \mu\text{l}$ 의 정상 인간 혈청 보체를 각 웰에 첨가하였다.
- [0573] 4. 분석 플레이트를 37°C 및 5% CO_2 에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 2시간 인큐베이션 후, $20 \mu\text{l}$ 의 WST-1 증식 시약을 분석 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 37°C 5% CO_2 인큐베이터로 다시 넣어 14시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0574] 5. 14시간 인큐베이션 후, 플레이트를 플레이트 진탕기에서 1분 동안 진탕하고, 웰의 흡광도를 분광광도계를 사용하여 600 nm 보정으로 450 nm에서 즉시 결정하였다. 표적 세포가 Raji(도 22, 좌측 패널)인 CDC 분석에서, S3Y-AA-CD20 작제물(CD20을 갖는 작제물 13)은 세포독성을 매개할 수 있는 반면, 다른 작제물은 그렇지 못하다.
- [0575] ADCP 분석을 다음과 같이 수행하였다:
- [0576] Fc γ RIIa-H ADCP 리포터 생물검정, Complete Kit(Promega Cat.# G9901)는 Fc γ RIIa에 특이적으로 결합하여 이를 활성화하는 Fc 도메인을 사용하여 항체 및 다른 생물 제제의 효능과 안정성을 측정하는 데 사용할 수 있는 생물발광 세포 기반 분석이다. 이러한 분석은 아미노산 131에 히스티딘(H)을 함유하는 고친화도 인간 Fc γ RIIa-H 변이체를 발현하는 유전자 조작 Jurkat T 세포주 및 NFAT-반응 요소(NFAT-RE)에 의해 유도되는 루시퍼라제 리포터로 구성된다. 표적 세포를 관련 항체와 공배양하는 경우, Fc γ RIIa-H 효과기 세포는 항체의 Fc 도메인에 결합시 Fc γ RIIa 신호전달 및 NFAT-RE 매개 루시퍼라제 활성을 유발한다. 생물발광 신호를 Bio-Glo™ 루시퍼라제 분석 시스템과 발광 측정기를 사용하여 검출되고 정량화하였다. 증가하는 농도의 항-CD20 mAb 및 작제물 7(항-CD20 Fab를 포함) 또한 작제물 13(항-CD20 Fab를 포함)을 Raji 표적 세포 및 Fc γ RIIa-H 효과기 세포(2:1 비)와 함께 인큐베이션하였다. 37°C 에서 6시간 동안 인큐베이션한 다음, Bio-Glo™ 시약을 첨가하고, PHERAstar FS 기기에서 발광을 측정하였다. GraphPad Prism 소프트웨어(도 22, 중간 패널)를 사용하여 데이터를 4PL 곡선에 피팅하였다. S3I-AA-CD20(항-CD20 Fab를 갖는 작제물 7) 및 S3Y-AA-CD20(항-CD20 Fab를 갖는 작제물 13) 작제물은 항-CD20 mAb에 비해 100배 초과 강화된 효능(EC50)을 보였다.
- [0577] ADCC 분석을 다음과 같이 수행하였다:
- [0578] 인간 1차 NK 효과기 세포를 해동하고 37°C 에서 하룻밤 동안 $5 \times 10^5/\text{mL}$ 의 림프구 성장 배지-3(Lonza)에 정치시켰다. 다음날, Raji 표적 세포를 회수하고, 분석 배지(페놀 레드 무함유 RPMI, 10% FBS, GlutaMAX™)에 재현탁하고, 다양한 농도의 목적 분자 각각의 존재 하에 37°C 에서 30분 동안 평판 배양하였다. 이어서, 정치시킨 NK 세포를 회수하고, 분석 배지에 재현탁하고, 항-CD20 코팅된 Raji 세포를 함유하는 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 효과기 대 표적 세포의 최종 비율이 5:1(5×10^4 개의 NK: 1×10^4 개의 Raji 세포)이 되도록 37°C 에서 6시간 동안 인큐베이션하였다.
- [0579] CytoTox-Glo™ 세포독성 분석 키트(Promega)를 사용하여 ADCC 활성을 측정하였다. CytoTox-Glo™ 분석은 발광성 펩티드 기질을 사용하여, 막 무결성을 상실한 세포, 예를 들어 용해된 Raji 세포에 의해 방출된 죽은 세포 프로테아제 활성을 측정한다. 6시간 인큐베이션 후, 준비한 시약(기질)을 플레이트의 각 웰에 첨가하고, 실온에서 15분 동안 오비탈 플레이트 진탕기에 넣었다. 발광을 PHERAstar F5 플레이트 판독기(BMG Labtech)를 사용하여 측정하였다. 백그라운드를 제거하기 위해 대조 조건(NK 세포 + Raji만 해당)의 판독치를 시험 조건에서 뺀

후 데이터를 분석하였다. (도 47, 우측 패널). S3(항-CD20 Fab를 갖는 작제물 7) 및 S3Y(항-CD20 Fab를 갖는 작제물 13) 작제물은 모두 푸코실화 mAb에 비해 강화된 세포독성을 보이며, 탈푸코실화 mAb와 비교하여 유사한 세포독성을 보였다.

[0580] 실시예 25. Fc-항원 결합 도메인 작제물을 특성화하는 데 사용되는 실험 분석

[0581] 펩티드 및 글리코펩티드 액체 크로마토그래피-MS/MS

[0582] 단백질을 6M 구아니딘(Sigma)에서 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 로 희석하였다. 디티오프레이톨(DTT)을 10 mM의 농도로 첨가하여 65 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분 동안 변성 조건 하에 이황화결합을 감소시켰다. 얼음에서 냉각한 후, 샘플을 암실에서 1시간 동안 30 mM 요오드아세트아미드(IAM)와 함께 인큐베이션하여 유리 티올을 알킬화(카바미도메틸화)하였다. 그런 다음 단백질을 10-kDa 멤브레인을 통과하여 25 mM 중탄산 암모늄 완충액(pH 7.8)으로 투석하여 IAM, DTT 및 구아니딘을 제거하였다. 단백질을 Barocycler(NEP 2320; Pressure Biosciences, Inc.)에서 트립신으로 분해하였다. 압력은 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20,000 psi와 주위 압력 사이를 1시간 동안 총 30 사이클 순환하였다. 펩티드의 LC-MS/MS 분석을 Ultimate 3000(Dionex) Chromatography System 및 Q-Exactive (Thermo Fisher Scientific) Mass Spectrometer 상에서 수행하였다. 물 중의 0.1% FA 및 아세트니트릴 중의 0.1% FA를 이동상으로 사용하여 BEH PepMap(Waters) 컬럼에서 펩티드를 분리하였다. 단독 자일로실화 링커 펩티드를 ± 1.5 Da 사중극자 단리폭(quadrupole isolation width)으로 이중 하전 이온($z=2$) m/z 842.5에 기초하여 표적화하였다.

[0583] 원형 질량 분석

[0584] 단백질을 78.98% 물, 20% 아세트니트릴, 1% 포름산 (FA), 및 0.02% 트리플루오로아세트산으로 이루어지는 전개 완충액(running buffer)에서 2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 의 농도로 희석하였다. 컬럼의 전체 길이가 700 mm인 2개의 Zenix-C SEC-300(Sepax Technologies, Newark, DE) 2.1 X 350 mm 상에서 직렬로 크기 배제 크로마토그래피 분리를 수행하였다. 전술한 전개 완충액을 사용하여 80 μL /분의 유속으로 SEC 컬럼에서 단백질을 용리하였다. QSTAR Elite(Applied Biosystems) Q-ToF 질량 분석기를 양이온 모드(positive mode)에서 작동시켜 질량 스펙트럼을 획득하였다. Bayesian 피크 디콘볼루션(deconvolution)을 사용하여 크로마토그래피 피크의 전체 폭에 걸친 스펙트럼을 합침으로써 개별 크기 분획의 중성 질량을 디콘볼루션하였다.

[0585] 모세관 전기영동-도데실 황산나트륨(CE-SDS) 분석

[0586] 샘플을 1 mg/mL로 희석하고 HT Protein Express 변성 완충액(PerkinElmer)과 혼합하였다. 혼합물을 40 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 인큐베이션하였다. 샘플을 70 μL 의 물로 희석하고 96-웰 플레이트로 옮겼다. 샘플을 HT Protein Express LabChip(PerkinElmer)에 장착된 Caliper GXII 도구(PerkinElmer)로 분석하였다. 각각의 크기 변형의 상대적인 양을 산출하는 데 형광 강도를 사용하였다.

[0587] 비환원 SDS-PAGE

[0588] 샘플을 95 $^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 Laemmli 샘플 완충액(4% SDS, Bio-Rad)에서 변성시켰다. Criterion TGX 무착색 겔(4~15% 폴리아크릴아미드, Bio-Rad)상에 샘플을 흘렸다. 단백질 밴드를 UV 조사 또는 쿠마시 블루 염색으로 눈에 보이게 하였다. ChemiDoc MP Imaging System(Bio-Rad)으로 겔을 이미지화하였다. Imagelab 4.0.1 소프트웨어(Bio-Rad)를 사용하여 밴드의 정량화를 수행한다.

[0589] 보체 의존성 세포독성(CDC)

[0590] CDC를 실시예 24에 전술한 바와 같이 평가하였다.

[0591] 실시예 26. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 4의 설계 및 정제

[0592] 단백질 발현

[0593] 비대칭 직렬 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 4(CD38) 각각은 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(Fc 장쇄(서열 번호 66) 및 3개 카피의 항-CD38 Fc 사슬(서열 번호 68)), 및 3개 카피의 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)를 포함한다. Fc 장쇄는 직렬로 3개의 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 각각의 Fc 도메인 단량체는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는다. Fc 단쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)을 함유한다(작제물 4(CD38)). CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 단쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적

화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. 표 7의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화한다.

표 7

[0594]

작제물 4 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄	Fc 단쇄(항-CD38 VH 및 CH1 포함)
작제물 4 S3L (CD38)	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFLT SSLEPEDFAVYVYQQRSNWPPFTGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLKSDGSFFLYSDDLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSP GKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG	서열 번호 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS GFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGGTYIADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNLSRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEFVFDYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFLPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVD GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSP G

발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 인산염 완충 식염수로 세척하고(저염 세척) pH 3, 100 mM 글리신으로 용리한다. 용출액을 1 M TRIS(pH 7.4)의 첨가로 빠르게 중화하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과하였다. 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분리한다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고 샘플을 용리 완충액으로서 50 mM MES, 400 mM 염화나트륨, pH 6(완충액 B)을 사용하여 단계 구배로 용리하였다. 이온 교환 후에, 표적 분획물을 접선 유동 여과 시스템상에서 10 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 PBS 완충액으로 완충액 교환하였다. 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0595] 실시예 27. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 8의 설계 및 정제

[0597] 단백질 발현

[0598] 분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 8(CD38) 각각은 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 Fc 장쇄(서열 번호 69) 및 2개 카피의 항-CD38 Fc 단쇄(서열 번호 68)) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 카피를 포함한다. Fc 장쇄는 (동종이량체화를 촉진하기 위한) 역전하 돌연변이 K409D 및 D399K를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된 (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. Fc 단쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)을 함유한다 (작제물 8(CD38)). CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 단쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. 표 8의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화한다.

표 8

[0599]

작제물 8 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄	Fc 단쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)
작제물 8 (CD38)	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGGTDFTLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLKSDGSFFFLYSLDITVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVL DSDGSFFFLYSLDITVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP G	서열 번호 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGFTFNSFAMSWVRQAPGKGL EWSAISGSGGGTYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY FCAKDKILWFGEFVFDYWGQGT LTVSSASTKGPSVFLPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVT YSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCA VDGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSGDSFFFLYSLDITVDK SRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPG

[0600]

발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 인산염 완충 식염수로 세척하고(저염 세척) pH 3, 100 mM 글리신으로 용리한다. 용리액을 1 M TRIS(pH 7.4)의 첨가로 빠르게 중화하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과한다. 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분리한다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고 샘플을 용리 완충액으로서 50 mM MES, 400 mM 염화나트륨, pH 6(완충액 B)을 사용하여 단계 구배로 용리한다. 이온 교환 후에, 표적 분획물을 접선 유동 여과 시스템 상에서 10 kDa 컷오프 폴리테트라설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 PBS 완충액으로 완충액 교환한다. 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0601]

실시예 28. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 9의 설계 및 정제

[0602]

단백질 발현

[0603]

분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 9(CD38)는 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 항-CD38 Fc 장쇄(서열 번호 54) 및 2개 카피의 항-CD38 Fc 단쇄(서열 번호 68)) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 카피를 포함한다. Fc 장쇄는, N-말단에 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)을 함유하고, (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 (동종이량체화를 촉진하기 위한) 역전하 돌연변이 K409D 및 D399K를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다 (작제물 9(CD38)). Fc 단쇄는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이 및 K370D 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하고, N-말단에 항-CD38 중쇄를 함유한다(작제물 9(CD38)). CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄 및/또는 Fc 단쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입하였다. 표 9의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화하였다.

표 9

[0604]

작제물 9 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)	Fc 단쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)
작제물 9 S3A (CD38)	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRTGIPARFSGSGSDFTLTI SSLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS GFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEFVFDYWGGTLVTVSSAST KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLKSDGSFFLYSCLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSP GKGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDRLTKNQVSLWCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPG	서열 번호 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVS GFTFNSFAMSWVRQAPGKGLEWVSA ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEFVFDYWGGTLVTVSSAST KGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVD GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSP G

[0605]

실시예 29. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 10의 설계 및 정제

[0606]

단백질 발현

[0607]

분지점이 N-말단 Fc 도메인에 있는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조한다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 10(CD38)은 각각 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 항-CD38 Fc 장쇄(서열 번호 71) 및 4개 카피의 Fc 단쇄(서열 번호 63)) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 카피 각각을 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1~220)을 함유하고, 직렬로 연결된 2개의 Fc 도메인 단량체를 함유하되, 각각의 Fc 도메인 단량체는 (이종이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부 형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 가지며, (동종이량체화를 촉진하기 위한) 역전하 돌연변이 K409D 및 D399K를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다 (작제물 10(CD38)). Fc 단쇄는 K370D 전하 돌연변이 및 (이종이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 항-CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입하였다. 표 10의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화하였다.

표 10

[0608]

작제물 10 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1)	Fc 단쇄

위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 항-CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝한다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입한다. 표 11의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화한다.

표 11

[0613]

작제물 16 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)	Fc 단쇄
작제물 16 S5Y (CD38)	서열 번호 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRA SQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYD ASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTI SSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQ GTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	서열 번호 73 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA VSGFTFNFSFAMSWVRQAPGKGL EWSAISGSGGGTYIADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVY FCADKILWFGEPVFDYWGQGTLV TVSSASTKGPVFPPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVTVPSSSLGTYI CNVNHKPS NTKVKDRVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGG DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP G	서열 번호 63

[0614]

발현된 단백질을 Poros MabCapture A(LifeTechnologies) 컬럼을 사용하는 단백질 A-기반 친화 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제한다. 포획된 Fc-항원 결합 도메인 작제물을 인산염 완충 식염수로 세척하고(저염 세척) pH 3, 100 mM 글리신으로 용리한다. 용리액을 1 M TRIS(pH 7.4)의 첨가로 빠르게 중화하고, 0.2 μm 필터로 멸균 여과한다. 단백질을 Poros XS 수지(Applied Biosciences)를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 추가로 분리한다. 컬럼을 50 mM MES, pH 6(완충액 A)로 사전 평형화하고 샘플을 용리 완충액으로서 50 mM MES, 400 mM 염화나트륨, pH 6(완충액 B)을 사용하여 단계 구배로 용리한다. 이온 교환 후에, 표적 분획물을 집선 유동 여과 시스템 상에서 10 kDa 컷오프 폴리에테르설폰(PES) 막 카트리지를 사용하여 PBS 완충액으로 완충액 교환한다. 샘플을 약 30 mg/mL로 농축하고, 0.2 μm 필터를 통해 멸균 여과한다.

[0615] 실시예 31. CD38 결합 도메인을 갖는 Fc-항원 결합 도메인 작제물 19의 설계 및 정제

[0616] 단백질 발현

[0617] 분지점이 N-말단 또는 C-말단 Fc 도메인에 없는 단일 분지형 Fc 도메인으로 형성된 작제물을 하기 기재된 바와 같이 제조하였다. Fc-항원 결합 도메인 작제물 19(CD38)는 2개의 별개의 Fc 도메인 단량체 함유 폴리펩티드(2개 카피의 항-CD38 Fc 장쇄(서열 번호 75) 및 4개 카피의 Fc 단쇄(서열 번호 63)) 및 항-CD38 경쇄 폴리펩티드(서열 번호 49)의 카피 각각을 포함한다. Fc 장쇄는 N-말단에 항-CD38 VH 및 CH1 도메인(EU 위치 1-220)을 함유하고, (이중이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유하며, 상기 Fc 도메인 단량체는 (동종이량체화를 촉진하기 위한) 역전하 돌연변이 K409D 및 D399K를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결되고, 이는 (이중이량체화를 촉진하기 위한) S354C 및 T366W 돌출부-형성 돌연변이 및 E357K 전하 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체와 직렬로 연결된다 (작제물 19(CD38)). Fc 단쇄는 K370D 전하 돌연변이 및 (이중이량체화를 촉진하기 위한) Y349C, T366S, L368A 및 Y407V 함몰부-형성 돌연변이를 갖는 Fc 도메인 단량체를 함유한다. 항-CD38 경쇄는 또한 scFv의 일부로서 Fc 장쇄의 N-말단에 융합되도록 발현될 수 있다. DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입하였다. 표 12의 각 작제물에 대한 다음의 아미노산 서열을 3개의 별개의 플라스미드(경쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드, Fc 장쇄를 암호화하는 하나의 플라스미드, 및 Fc 단쇄(항-CD38)를 암호화하는 하나의 플라스미드)에 의해 암호화하였다.

표 12

[0618]

작제물 19 (CD38) 서열			
작제물	경쇄	Fc 장쇄 (항-CD38 VH 및 CH1 포함)	Fc 단쇄

<p>작제물 19 S5X (CD38)</p>	<p>서열 번호</p> <p>DVLMTQSPLSLPVTPGEPASISCRS SRNIVHINGDTYLEWYLQKPGQSPQ LLIYKVSNRFGVDPDRFSGSGSGTD FTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSLP WTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p>	<p>서열 번호</p> <p>EVQLLESGGGLVQPGSLRLSCAVS GFTFNSFAMSWVRQAPGKLEWVSA ISGSGGGTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDK ILWFGEFVFDYWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPCRDKLTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSPG GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTPVPL KSDGSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVF SCSVMEALHNHYTQKLSLSPGK GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGDKTHTC PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDKLTKNQVSLWCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTPVPLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC VMHEALHNHYTQKLSLSPG</p>	<p>서열 번호</p> <p>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVD GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSP G</p>
------------------------------	--	---	---

[0619] 실시예 32. 인간 종양 세포주 및 인간 및 사이노물구스 원숭이 CD38을 발현하는 안정한 세포주에 대한 항-CD38 작제물의 결합

[0620] 10% FBS를 함유하는 배지에서 1시간 동안 4°C에서 증가하는 농도의 VivoTag645-표지된 항-CD38 항체와 함께 종양 세포 현탁액을 인큐베이션하였다. 이어서, 세포를 저온 완충액으로 세정하고 FACS 완충액에 현탁시켰다. 이어서, 표지된 세포 현탁액을 BD FACS Verse 유세포 분석기 상의 APC 채널에서 판독하였다. 비표지 세포를 사용하여 살아 있는 세포 집단을 게이팅하였다. FlowJo 소프트웨어를 사용하여 기하 평균 형광 강도(gMFI) 값을 게이팅된 집단으로부터 계산하였다. 이러한 분석 결과가 도 25에 제공되어 있다.

[0621] Raji 세포를 사용하여 모 IgG1 항-CD38 항체 및 해당 항-CD38 작제물의 용량 의존적 상대적 결합을 평가하였다. 항-CD38 mAb(다양한 항-CD38 Fc 작제물에 대한 Fab 공급원임)가 원숭이 CD38과 교차 반응하지 않으므로, 사이노물구스 원숭이 CD38과 반응하는 항-CD38 인간 단일클론 IgG1 항체 대용물질(S1A-AA-사이노 CD38) 및 사이노물구스 원숭이 CD38과 반응하는, 동일한 Fab 서열을 사용하는 항-CD38 작제물 13 대용물질(S3Y-AA-사이노 CD38)을 생성하였는데; 이를 사용하여 사이노물구스 원숭이 혈청 보체의 존재 하에 CDC 활성 및 비인간 영장류 전혈에서 내인성 사이노물구스 원숭이 CD38을 표적으로 하는 약물력한 반응을 평가하였다. 이러한 결합 연구 결과가 도 26에 제시되어 있다.

[0622] 실시예 33. 항-CD38 작제물의 CDC 활성

[0623] CD38-발현 종양 세포주(Daudi 및 Raji)의 세포 사멸을 촉진하는 항-CD38 항체 및 항-CD38 Fc 작제물의 능력은 시험관 내 CDC 분석에 의해 평가하였다. 인간 혈청 보체를 보체 공급원으로 사용하였다. 0.1% BSA를 함유하는 RPMI-1640 배지를 완충액으로 사용하여 세포 현탁액, 항체 및 혈청 희석액을 제조하였다. CD38 양성 종양 세포

를 먼저 완충액으로 세정하고, 10⁶개의 세포/ml의 밀도로 재현탁시켰다. 전형적인 분석에서, 50 μl의 항체 또는 항-CD38 Fc 작제물, 50 μl의 희석된 보체(5X 희석) 및 50 μl의 세포 현탁액(50,000개의 세포/웰)을 평평한 바닥 조직 배양 96-웰 플레이트에 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하여 보체 매개 세포 용해를 촉진하였다. 이어서, 50 μl의 Alamar Blue를 각 웰에 첨가하고 37°C에서 18시간 동안 인큐베이션하였다. 형광은 530 nm에서 여기되고 590 nm에서 방출되는 96-웰 형광계를 사용하여 판독되었다.

[0624] 항-CD38 mAb 또는 항-CD38 작제물에 의해 유도된 상대적인 CDC 매개 종양 세포 용해를 평가하기 위해 인간 또는 사이노 혈청 보체의 존재 하에 Daudi 세포 및 Raji 세포로 분석을 수행하였다. 표 13에 제시된 결과는 생존 세포의 수에 비례하는 상대 형광 단위(RFU)로 표현된다. 다양한 돌연변이체의 활성은 Ab 농도(Alamar Blue 첨가전 최종 농도)의 로그에 대한 CDC 활성%를 플로팅하여 조사하였다. CDC 활성%를 다음과 같이 계산하였다: % CDC 활성 = (RFU 시험 - RFU 백그라운드) X 100(총 세포 용해에서 RFU - RFU 백그라운드). 값은 대표적인 실험의 평균 ± SD를 나타낸다(n=3개의 개별 실험으로부터의) 이러한 연구는 항-CD38 작제물이 항-CD38 mAb-CDC 민감성 세포(Daudi) 및 항-CD38 mAb-CDC 내성 세포(Raji)에서 항-CD38 mAb보다 더 큰 효능(최대 종양 세포 사멸) 및 효력을 나타낸다는 것을 입증한다. 용어 항-CD38 mAb-민감성 또는 -내성은 세포 기반 CDC 검정에서 항-CD38 mAb 매개 표적 세포 용해에 대한 민감성 또는 내성을 말한다.

표 13

Daudi 세포 및 Raji 세포에서 CD38 작제물의 CDC 활성					
처리	Daudi 세포			Raji 세포	
	최대 용해%	EC50 nM	EC50, 항-CD38 mAb에 대한 배수 차이	최대 용해%	최대 용해%, 항-CD38 mAb에 대한 배수 차이
항-CD38 mAb	100	0.7749	1.00	14.7	1.00
작제물 13 S3Y-AA-CD38	100	0.0725	10.685	92.1	6.28
작제물 7S3I-AA-CD38	100	0.1960	3.954	15.5	1.06
작제물 9S3A-AA-CD38	100	0.0372	20.831	39.9	2.72
작제물 19S5X-AA-CD38	100	0.0993	7.801	83.3	5.67

[0625]

[0626] ¹달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0627] 사이노물구스 원숭이 CD38 교차 반응성 항-CD38 작제물 13(S3Y-AA-사이노 CD38)은 해당 mAb(S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb)보다 민감성 및 내성 종양 세포 둘 모두에서 CDC의 유도에 있어서 유의미하게 높은 효력 및 효능을 나타냈다. 상기 기재한 것과 유사한 방식으로 이러한 분석을 수행하였으나, Daudi 종양 세포 및 원숭이 혈청 보체(도 27, 패널 A), Raji 종양 세포 및 원숭이 혈청 보체(도 27, 패널 B), Daudi 종양 세포 및 인간 혈청 보체(도 27, 패널 C), Raji 종양 세포 및 인간 혈청 보체(도 27, 패널 D)를 사용하였다. 이러한 작제물의 CDC 활성이 표 14에 제시되어 있으며, Daudi 및 Raji 세포에 대한 CDC의 유도에 있어서 S1A-AA-사이노(항-사이노 CD38 mAb)에 비해 S3Y-AA-사이노 CD38의 효능 및 효력의 유의미한 강화를 보인다.

[0628] 표 14: Daudi cell 및 Raji 세포에서 사이노물구스 원숭이 CD38 반응성 작제물의 CDC 활성

[0629] [표 14]

Daudi cell 및 Raji 세포에서 사이노물구스 원숭이 CD38 반응성 작제물의 CDC 활성					
처리 (사이노 혈청 보체의 존재 하에)	Daudi 세포			Raji 세포	
	최대 용해%	EC50 nM	EC50, S1A-AA-사이노에 대한 배수 차이	최대 용해%	최대 용해%, S1A-AA-사이노에 대한 배수 차이
S1A-AA-사이노	78.62	0.9593		12.76	
작제물 13S3Y-AA-사이노	97.84	0.1486	6.46	92.78	7.27
처리(인간 혈청 보체의 존재 하에)	최대 용해%	EC50 nM	EC50, S1A-AA-사이노에 대한 배수 차이	최대 용해%	최대 용해%, S1A-AA-사이노에 대한 배수 차이
S1A-AA-사이노	67.96	0.6301		12.7	
작제물 13S3Y-AA-사이노	102.4	0.1547	4.07	100.6	7.92

[0630]

[0631] 실시예 34. 항-CD38 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포 식균작용(ADCP) 활성화

[0632] 단핵구를 인간 전혈에서 분리하고 6-웰 플레이트에서 인간 M-CSF 및 IL-10으로 처리하여 대식세포로 분화시켰다. 이어서, 이러한 부착성 대식세포를 이후 분석 웰에 파종하기 위해 냉각된 PBS + 2 mM EDTA를 사용하여 분리하였다. 2×10^5 개의 대식세포를 2% 초저 FBS를 함유하는 RPMI-1640 배지의 96 웰 평평한 바닥 플레이트에 파종하였다. 플레이트를 잠시 원심분리하여, 37°C에서 1시간 동안 인큐베이션하여, 대식세포를 96-웰 플레이트의 바닥에 부착시켰다. Raji 종양 세포를 Calcein-AM으로 염색한 다음, 항-CD38 mAb 또는 다양한 항-CD38 작제물의 연속 희석의 존재 하에 3:1의 효과기(대식세포):표적(종양 세포) 비로 대식세포를 함유하는 플레이트에 첨가하였다. 이어서 플레이트를 CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 상청액을 V-바닥 96 웰 플레이트에 수집하였다. 부착 세포를 냉각된 PBS 함유 2 mM EDTA로 분리하여 수집하였다. 상청액으로부터의 세포 및 분리된 부착 세포를 함께 플링하였다. 이어서, 이러한 항체를 1시간 동안 4°C에서 항-CD11b APC 및 -CD19 BV421 항체로 이러한 세포를 염색하였다. 표지된 세포 현탁액을 FACS Verse 유세포 분석기에서 판독하였다. 표면 CD19 염색에 음성인 이중 양성 대식세포(CD11b+/Calcein-AM+)는 식세포 현상으로 간주되었다. 결과는 표 15에 제시되어 있으며, 1차 인간 대식세포에 의한 옅소년화된 Raji 세포의 식균작용을 유도하는 데 있어 항-CD38 작제물의 우수한 효능을 보여준다.

[0633] [표 15]

ADCP 검정에서의 항-CD38 Fc 작제물의 효력				
작제물 번호1	n	EC50(nM)		
		범위	평균	SD
항-CD38 mAb	2	0.14-0.08	0.11	0.045
S3Y-AA-CD38 작제물 13	2	0.1-0.03	0.069	0.05
S3A-AA-CD38 작제물 9	2	0.034-0.028	0.031	0.004
S5X-AA-CD38 작제물 19	2	0.02-0.04	0.03	0.011

[0634]

[0635] ¹달리 명시되지 않는 한 모든 작제물은 G20 링커를 포함하였다.

[0636] 실시예 35. 항-CD38 Fc 작제물에 의한 항체 의존성 세포-매개 세포독성(ADCC) 활성화

[0637] Raji 세포를 96 웰 플레이트에서 5000개의 세포/50 μL 배지/웰의 농도로 10% 초저 IgG FBS를 함유하는 RPMI 배지에 현탁시켰다. 이어서, 샘플을 증가하는 농도의 항체 및 작제물(10 uL/웰)과 함께 25°C에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 일차 인간 NK 세포(이펙터 세포)를 5:1의 이펙터 대 표적 비로 첨가하였다. 이어서, 이펙터 및 표적 세포 혼합물은 5% CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 5시간 동안 인큐베이션하였다. CytoTox Glo 시약(50 μL)을 첨가하고, 플레이트를 15분 동안 25°C에서 인큐베이션하여 죽은 세포를 표지하였다. 이어서, Pherastar 발광 측정기에서 샘플을 판독하여 죽은 세포의 발광 신호를 측정하였다. 결과는 ADCC의 유도에 있어서 항-CD38 mAb에 비해 S3Y(작제물 13) 분자의 5~7X 더 높은 효력을 입증한다. 하기 표 15에 나타낸 바와 같이, 항-CD38 작제물 13은 Raji 종양 세포에 대한 1차 인간 NK 세포 매개 ADCC를 유도하는 데 있어서 항-CD38 mAb보다 우수한 효력을 입증하였다. 표적 및 효과기 세포를 37°C에서 5시간 동안 약물 분자로 처리한 후 CytoTox Glo 시약으로 죽은 세

포를 검출하였다. 분석 대조군, 자발적 방출 대조군(표적 세포만); 항체가 없는 대조군; NK 세포만 + 항체; IgGk 동형 대조군

[0638] [표 15]

ADCC 검정에서의 항-CD38 Fc 작제물의 효력				
작제물 번호1	n	EC50(nM)		
		범위	평균	SD
항-CD38 mAb	2	0.013-0.003	0.01567	0.007541
S3Y-AA-CD38 작제물 13 G20 덩커	2	0.0019-0.0006	0.0012	0.0009

[0639]

[0640] **실시예 36: 인간 전혈에서의 항-CD38 작제물에 의한 종양 세포 사멸**

[0641]

Daudi 세포를 50 μ l의 배지(RPMI-1640 + 10% 초저 IgG FBS)에 현탁하고 96 웰 플레이트의 각 웰에 접종하였다. 50 μ L의 전혈 또는 ACK-용해된 인간 전혈 세포(혈청 및 RBC 없음)를 종양 세포 현탁액에 첨가하였다. 이어서, 50 μ l의 항체 및 항-CD38 작제물 희석액(RPMI-1640 배지 + 10% FBS)을 첨가하였다. 샘플을 혼합한 다음, CO₂ 인큐베이터에서 37°C에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 새로 준비한 루시페린 용액(스톡 농도, 50 mg/mL) 50 μ L를 첨가하여 남아있는 살아 있는 Daudi 세포를 평가하였다. 이어서, 플레이트를 플레이트 진탕기에 5분 동안 두었다. 살아 있는 Daudi-루시페라제 세포에서 방출된 발광을 Pherastar 발광 측정기를 사용하여 관독하였다.

[0642]

도 28에 제시된 결과는 항-CD38 작제물 13(S3Y-AA-CD38)이 3명의 개별 공여자로부터 수집된 인간 전혈에서 표적 세포 사멸에 있어서 항-CD38 mAb보다 10X~36X 더 강력함을 시사한다. 그러나, RBC 용해되고 세정된 전혈에 대해, 항-CD38 mAb 또는 항-CD38 작제물에서 종양 세포 고갈이 관찰되지 않았다. RBC 용해되고 세정된 전혈 세포를 동일한 공여자로부터 준비한 자가 혈청으로 보충하면, 종양 세포 고갈이 회복되었는데, 이는 전혈에서 항-CD38 mAb 및 항-CD38 작제물-유도된 종양 세포 사멸을 촉진하는 데 있어서 혈청 단백질의 역할을 시사한다.

[0643]

실시예 37: 원숭이 전혈에서 내인성 CD38 발현 B 세포의 고갈

[0644]

사이노 전혈을 세포 표면 마커 항체 각테일과 함께 각각의 VivoTag645-표지된 분자(SIF1, IgG 동형 대조군, S1A-AA-사이노-001(항-사이노 CD38 mAb), 항-사이노 CD38 작제물 13(S3Y-AA-사이노-001)의 연속 희석액과 별도로 혼합하였다. 이어서, 혈액 샘플을 세포 표면 결합을 확인하기 위해 4°C에서 30분 동안 인큐베이션하거나, 세포 고갈에 대한 치료 효과를 확인하기 위해 CO₂ 인큐베이터에서 3시간 동안 37°C에서 별도로 인큐베이션하였다. 이러한 치료 후, 샘플을 저온 염화 암모늄 용액과 혼합하여 RBC를 용해시켰다. 이어서, 샘플을 세정하고, 1% 파라포름알데히드를 함유하는 완충액에 재현탁하여, 다음날 FACS 분석을 수행하였다. CD38+ B 세포 집단을 CD38-결합 & 결합-빈도 데이터에 기초하여 평가하였다. CD38+ B 세포 유형의 빈도를 측정하여 3시간 동안 작제물 분자 처리로 인한 고갈을 확인하였다. 10 nM(1 Log nM) 이상의 용량에서 항-CD38 작제물 13(S3Y-AA-사이노-001)에서 B 세포 고갈이 용량 의존 방식으로 관찰되었다. 고갈은 100~1000 nM(2~3 Log nM)에서 나타나기 시작한다. 항-사이노 CD38 mAb(S1A-AA-사이노-001)와 비교하여 항-사이노-CD38 작제물 13(S3Y-AA-사이노-001)에서 더 큰 고갈이 관찰되었다.

[0645]

실시예 38: 생체 내 림프종 모델

[0646]

질환 진행 및 치료 반응에 대한 제제의 효과를 종양 부피 측정에 의해 인간 림프종에 대한 피하 종양 모델에서 평가하였다. CB17-중증합병면역결핍증(SCID) 마우스(암컷, 6~7 주령, 평균 체중 20 g, Charles River Laboratories로부터의 균주 236)를 IACUC 프로토콜에 따라 사용하기 전에 48시간 동안 Momenta 동물 관리 시설에 보관하였다. 물과 음식은 자유롭게 제공되었다. 모든 실험은 기관 동물윤리위원회의 승인을 받았다. 가벼운 통증의 증의 징후와 GA에 대해 마우스를 매일 체크하였다. 피하 종양 이종이식 모델을 위해, 고농도 Matrigel에 현탁된 5X10⁶개의 인간 버킷 림프종 Raji 세포를 마우스의 오른쪽 옆구리에 피하 하였다. 종양 부피를 종양이 약 250 mm³에 도달할 때까지(약 6~7일까지) 매주 2회 측정하였으며, 이때 마우스를 처리군(8마리의 마우스/군)으로 배정하였다. 치료 하루 전, 정맥 내 치료제 주사 직전(PBS, 항-CD38 mAb 또는 S3Y-AA-CD38 포함) 및 치료 다음날 3개의 군의 마우스 모두에 0.5 mL의 정상 인간 혈청 보체를 복강 내 주사하였다. 체중 및 종양 부피를 매주 2회 기록하였다. 부피가 2000 mm³에 도달했을 경우 종양을 매일 측정하였다. 모든 동물을 매일 관찰하였으

며, 병에 걸린 동물은 IACUC 프로토콜에 따라 안락사하였다. 도 30에 도시된 결과는 인간 혈청 보체의 존재 하에 치료를 제공하였을 때, 이러한 인간 림프종 마우스 모델에서 항-CD38 작제물 13(S3Y-AA-CD38)이 항-CD38 mAb 보다 더 효과적임을 시사한다.

[0647] 실시예 39: 작제물의 Fc 도메인은 항체의 Fc 도메인의 Fc 감마 수용체에 대한 유사한 결합을 유지한다

[0648] 항-CD20 및 항-CD38 작제물을 사용하여 동중이량체화 돌연변이, 이중이량체화 돌연변이, 폴리펩티드 링커 및 Fab 도메인의 다양한 조합이 Fc 감마 수용체에 대한 결합에 영향을 미치는지 여부를 평가하였다. 표면 플라스몬 공명(SPR)을 사용하여 CD64(Fc 감마 수용체 I)와의 1:1 결합을 평가하였다. 작제물을 칩 표면에 포획하고, 가용성 수용체에 대한 결합은 1:1 결합을 보장하기 위해 측정하였다. 이러한 형식에서, 결합 원자가는 Fc 기능의 변경에 대해 가장 민감한 판독치이며; 운동 및 평형 상수는 Fc 도메인의 서브세트의 변경에 민감하지 않다.

[0649] 세포 배양

[0650] DNA 서열을 포유류 세포에서의 발현을 위해 최적화하였고 pcDNA3.4 포유류 발현 벡터에 클로닝하였다. DNA 플라스미드 작제물을 인간 배아 신장(HEK) 293 세포에 리포솜을 통해 형질주입하였다. 항체는 2개의 상이한 플라스미드로부터 발현되었는데, 하나는 중쇄를 암호화하고 다른 하나는 경쇄를 암호화한다. SIF-바디는 3개의 별개의 플라스미드로부터 발현되었는데, 대부분의 경우에, 하나의 플라스미드는 항체 경쇄를 암호화하고, 하나의 플라스미드는 아미노-말단 Fc에 부착된 CH1-VH FAB 부분을 함유하는 Fc 장쇄를 암호화하며, 제3 플라스미드는 Fc 단쇄를 암호화하였다. 예외는 S3A 및 S3W Sif-바디이었다. S3W의 경우, 하나의 플라스미드는 항체 경쇄를 암호화하고, 제2 플라스미드는 2개의 Fc 도메인을 함유하는 장쇄를 암호화하며, 제3 플라스미드는 CH1-VH FAB 부분을 함유하는 단일 Fc 사슬을 암호화하였다. S3A의 경우, 하나의 플라스미드는 항체 경쇄를 암호화하고, 제2 플라스미드는 아미노-말단 Fc에 부착된 CH1-VH FAB 부분을 함유하는 Fc 장쇄를 암호화하며, 하나의 플라스미드는 CH1-VH FAB 부분을 또한 함유하는 Fc 단쇄를 암호화하였다.

[0651] 단백질 정제

[0652] 발현된 단백질을 Poros MabCapture A 컬럼을 사용하여 단백질 A-기반 친화성 컬럼 크로마토그래피에 의해 세포 배양 상청액으로부터 정제하였다. 포획된 SIF 바디를 로딩 후 인산염 완충 식염수(PBS, pH 7.0)로 세정하고, 추가 공정 관련 불순물을 제거하기 위해 중간 세정 완충액 50 mM 구연산염 완충액(pH 5.5)으로 추가 세정하였다. 결합된 SIF 바디 물질을 pH 3의 100 mM 글리신으로 용리하고, pH 7.4의 1 M TRIS를 첨가하여 용리액을 신속하게 증화한 후, 원심분리하고, 0.2 µm 필터를 통해 멸균 여과하였다.

[0653] Poros XS 수지를 사용하여 이온 교환 크로마토그래피에 의해 단백질을 추가로 분리하였다. pH 6의 50 mM MES(완충액 A)로 컬럼을 사전 평형화하고, 로딩을 위해 샘플을 평형 완충액(equilibration buffer)에 희석하였다 (1:3). 용리 완충액으로서 50 mM MES(100% A)에서 pH 6의 400 mM 염화나트륨(100% B)까지의 12~15 CV 선형 구배를 사용하여 샘플을 용리하였다. 용리 중에 수집된 모든 분획물은 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)로 분석하고, 표적 분획물을 모아서 정제된 SIF-바디 물질을 생성하였다.

[0654] 이온 교환 후, 모든 물질을 접선 유동 여과 시스템에서 30 kDa 컷오프 폴리에테르 설포네(PES) 막 카트리지를 사용하여 1X-PBS 완충액으로 완충액 교환하였다. 샘플을 대략 10~15 mg/mL로 농축하고, 0.2 µm 필터로 멸균 여과하였다.

[0655] 물리화학적 분석

[0656] 분석용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 포스트 단백질 A, 모인 이온-교환 분획물 및 최종 정제된 재료에 대한 순도를 평가하였다.

[0657] 정제된 재료를 1X-PBS를 사용하여 1 mg/ml로 희석하고, 분석 컬럼으로 Zenix SEC-300(4.6 x 300 mm, 3 µm, 300 Å, Sepax, Cat. #213300-4630)을 사용하여 UV & FLD 검출기를 구비하는 Agilent 1200 시스템 상에서 분석하였다.

[0658] 컬럼을 분석 전에 1시간 동안 0.3 ml/분으로 0.05% w/v 아지드화나트륨 완충액으로 100 mM 인산나트륨, 200 mM 아르기닌, 300 mM 염화나트륨 pH=6.7로 평형화하였다. 주입량 약 10~15 µl, 컬럼 온도: 300C, 280 nm에서 UV 검출 및 280 nm에서 여기 및 330 nm에서 방출을 갖는 FLD(총 실행 시간:15분).

[0659] 크기 순도 결과는 표 16에 도시되어 있다. 모든 물질은 낮은 수준의 고차종만을 나타내었다.

표 16

Fc 결합 분석에 사용된 작제물의 크기 순도			
작제물	항원	SEC에 의한 크기 순도(표적 화학종(%))	SEC에 의한 크기 순도(HOS(%))
mAb	CD20	97.0%	1.7%
작제물 13(S3Y)	CD20	89.6%	0.0%
작제물 7(S3I)	CD20	89.0%	1.7%
작제물 8(S3W)	CD20	83.4%	0.0%
작제물 9(S3A)	CD20	92.4%	1.5%
작제물 10(S5I)	CD20	98.4%	1.6%
작제물 19(S5X)	CD20	90.0%	0.4%
작제물 16(S5Y)	CD20	73.8%	1.6%
mAb	CD20	97.0%	1.7%

[0660]

[0661] 결합 분석

[0662] 결합 실험을 CM3 시리즈 S 센서 칩을 사용하여 Biacore T200 기기(GE Healthcare)에서 수행하였다. FcγR 결합의 원자가 분석을 위해, 천연 단백질 A를 직접 아민 커플링을 통해 고정하였다. 리간드를 전개 완충액에서 희석하고 포획하였다. 인간 재조합 CD32a 또는 CD64(R&D Systems)의 6-포인트 연속 희석을 포획한 리간드 위에 흘렸다. 각 리간드의 원자수를 다음과 같이 계산하였다:

[0663] 리간드 원자가 = $R_{max} / [(MW \text{ 분석물} / MW \text{ 리간드}) * \text{리간드 포획 수준}]$.

[0664] 항-CD20 작제물에 대한 CD64 결합의 분석 결과가 표 17에 도시되어 있다. 모든 경우에, CD64 결합 원자수는 Fc 도메인의 수와 같은데, 이는 모든 Fc 도메인이 CD64에 결합하도록 기능한다는 것을 시사한다. S3Y-AA-OBI 및 S3Y-AA-AVE와 서열이 동일하지만, Fab 도메인이 결합된 대조 화합물은 이러한 작제물과 유사하게 CD64에 결합하는데, 이는 Fab 도메인을 포함하는 것이 Fc 수용체에 대한 결합을 변경하지 않았음을 보여주었다.

표 17

[0665]

특정 항-CD20 작제물의 원자가			
작제물	항원	Fc 도메인 수	SPR에 의한 C64 원자가
mAb	CD20	1	1.5
작제물 13 (S3Y)	CD20	3	3.4
작제물 7 (S3I)	CD20	3	03.
작제물 8 (S3W)	CD20	3	2.9
작제물 9 (S3A)	CD20	3	3.1
작제물 10 (S5I)	CD20	5	5.5
작제물 19 (S5X)	CD20	5	4.9
작제물 16 (S5Y)	CD20	5	5.5
대조군 (S3Y)	항원 결합 도메인 없음	3	3.

[0666] 실시예 40: 작제물은 세포 표면 Fc 감마 수용체에 대해 더 단단히 결합한다

[0667] 세포 표면 CD32a에 대한 작제물의 상대적 결합을 항-CD20 작제물을 사용하는 시간 분해 형광 공명 에너지 전달

(TR-FRET) 분석(CisBio)에서 평가하였다. 분석 시약은 제조업체의 지침에 따라 제조하였다. Freedom EVOware 150 자동 액체 분주기(Tecan)를 사용하여 표지된 수용체를 갖는 세포에 첨가된 각 샘플에 대한 10-포인트, 3-배 연속 희석을 생성하였다. 이어서, 표지된 경쟁 항체를 첨가하고, 플레이트를 실온에서 인큐베이션하였다. PHERAstar 형광 판독기(BMG Labtech GmbH)를 사용하여 분석 플레이트를 665 및 620 nm에서 판독하였다. 로그 변환한 샘플 농도를 해당 HTRF 신호 비율(665 nm/620 nm)에 대해 플롯하였다. 4개의 파라미터 비선형 회귀 분석(최소 제곱 피팅)을 XY-플롯에서 수행하여 표지되지 않은 샘플의 EC50를 계산하였으며, 이때 EC50은 Fc 감마 수용체에 대한 샘플의 친화도에 반비례한다.

[0668] TR-FRET에 의해 측정된 CD32a에 대한 경쟁 결합의 측정이 표 17에 요약되어 있다. Fc 도메인의 수를 증가시키면, CD32a에 대해 면역글로불린과 경쟁하는 작제물의 능력이 크게 증가하였는데, 이는 감소된 IC50 값에 의해 반영된 바와 같다. S3Y-AA-OBI 및 S3Y-AA-AVE와 서열이 동일하지만, Fab 도메인이 결여된 대조 화합물은 이러한 작제물과 유사하게 세포 표면 CD32a에 대해 경쟁하였는데, 이는 Fab 도메인을 포함하는 것이 Fc 수용체에 대한 결합을 변경하지 않았음을 보여주었다.

[0669] [표 17]

특정 항-CD20 작제물의 Fc 수용체 결합				
작제물	항원	Fc γ RIIaV158 IC50(nM)	Fc γ RIIaH131 IC50(nM)	Fc γ RIIb IC50(nM)
mAb	CD20	428	1273	3291
작제물 13(S3Y)	CD20	0.076	0.009	2.146
작제물 7(S3I)	CD20	0.230	0.014	29.220
작제물 8(S3W)	CD20	0.476	0.026	34.925
작제물 9(S3A)	CD20	0.539	0.018	17.361
작제물 10(S5I)	CD20	0.045	0.002	4.427
작제물 15(S5X)	CD20	0.055	0.012	0.086
작제물 1(S5Y)	CD20	0.017	0.014	1.231
대조군(S3Y)	항원 결합 도 메인 없음	0.097	0.025	3.297

[0670]

[0671] 실시예 41: 항원 결합은 항-CD38 작제물에서 보존된다.

[0672] SPR을 사용하여 항원 결합을 평가하였다. 재조합의 히스티딘 태그된 CD38(9049-B7 R&D Systems) 단백질을, 미리 고정시킨 항-6X His 항체를 사용하여 센서에서 포착하였다. 동족 항체 및 SIF-바디의 연속 희석물을 센서에 통과시켰으며, 분석물 주입과 주입 사이에 낮은 pH 글리신 용액을 사용해 이를 재생하였다. 결합을 1:1 Langmuir 상호작용 모델을 사용하여 계산하였다.

[0673] 항-CD38 작제물의 결합이 표 18에 도시되어 있다. 시험한 모든 화합물은 SEC에 의한 순도가 93% 미만이었다. 작제물은 1:1 결합을 선호하는 분석에서 상응하는 단일클론 항체와 유사한 항원 결합을 가졌다.

표 18

[0674]

SPR에 의한 항-CD38 작제물에 대한 CD38 결합	
작제물	KD(nM)
mAb	670
S3Y	703
S3A	757

[0675] 표 19는 별개의 연구에서 항-CD38 작제물의 결합에 대한 데이터를 제공한다.

표 19

[0676]

특정 항-CD38 작제물에 의한 인간 CD38 결합		
작제물	25C에서의 KD(nM)	37C에서의 KD(nM)
항-CD38 mAb	129	410
S3Y-AA-CD38	142	661
S3I-AA-CD38	132	442

S5X-AA-CD38	166	553
S3A-AA-CD38	126	410

- [0677] 실시예 42: 항-CD38 Fc 작제물은 인간 림프종 세포에 대해 증가된 세포용해 활성을 나타낸다.
- [0678] 도 31a 및 도 31b에 도시된 바와 같이, S3Y-AA-CD38 항-CD38 Fc 작제물은 ADCC(1차 인간 NK 세포 매개), ADCP(1차 인간 대식세포 매개) 및 CDC에서 동일한 Fab를 갖는 항-CD38 mAb보다 더 강력하였다.
- [0679] 실시예 43: 항-CD38 Fc 작제물은 항-CD38 항체보다 더 나은 효력과 효능으로 전혈로부터의 종양 세포 고갈을 개선하였다.
- [0680] 도 32에 결과가 제시된 이러한 분석에서, 인간 전혈에 CFSE-표지된 Daudi 세포를 스파이킹한 다음, 동일한 Fab를 갖는 항-CD38 mAb 또는 S3Y-AA-CD38로 처리하였다. 기준선에서 전혈 내의 종양 세포 집단(CFSE+CD19+)의 변화를 유세포 분석으로 측정하였다. 항-CD38 Fc 작제물은 항-항-CD38 mAb(n=5명의 공여자)보다 40~100X 더 높은 효력을 나타내었다.
- [0681] 실시예 44: 항-CD38 Fc 작제물은 종양 세포주를 발현하는 높은 그리고 낮은 CD38 보체 억제성 단백질 모두에서 세포독성을 매개한다.
- [0682] CD38-표적 항체 항-CD38 mAb에 대한 반응은 종양 세포의 CD38 발현 수준과 상관 관계가 있다. 또한, 보체 억제성 단백질(CD55, CD59)의 발현 증가는 항-CD38 mAb 유도 종양 세포 고갈을 유의미하게 감소시켜 질병 진행을 초래한다(문헌[Nijhof et al. (2016) *Blood* 128:959]). 도 33에 도시된 바와 같이, S3Y-AA-CD38 항-CD38 Fc 작제물(역삼각형)은 Daudi 세포(상대적으로 높은 CD38 발현 및 상대적으로 낮은 CD55 및 CD59 발현) 및 중요하게는 Raji 세포(상대적으로 낮은 CD38 발현 및 상대적으로 높은 CD55 및 CD59 발현)에서 동일한 Fab(원형)를 갖는 항-CD38 mAb보다 CDC 활성이 더 강력하다.
- [0683] 실시예 45: 항-CD38 Fc 작제물은 종양 세포주를 발현하는 높은 그리고 낮은 CD38 보체 억제성 단백질 모두에서 세포독성을 매개한다.
- [0684] 인간 및 사이노몰구스 원숭이 CD38 둘 모두에 결합하는, 표 6에 상술한 S3Y-AA-사이노, 항-사이노 CD38 Fc 작제물은 도 34a 및 도 34b에 도시된 바와 같은 동일한 Fab를 갖는 mAb(항-사이노 CD38 mAb)에 비해 인간 림프종 세포에 대해 개선된 ADCC, ADCP 및 CDC 활성을 보여주었다.
- [0685] 실시예 46: 항-사이노 CD38 Fc 작제물은 항-사이노 CD38 항체보다 더 나은 효력과 효능으로 사이노몰구스 원숭이 전혈에서 종양 세포 고갈을 개선한다.
- [0686] 결과가 도 35에 도시되어 있는 이러한 검정에서, 사이노몰구스 전혈에 CFSE-표지된 Daudi 세포를 스파이킹한 다음, 동일한 Fab를 갖는 항-CD38 mAb 또는 S3Y-AA-사이노 CD38로 처리하였다. 기준선에서 전혈 내의 종양 세포 집단(CFSE+CD19+)의 변화를 유세포 분석으로 측정하였다. 항-사이노 CD38 Fc 작제물은 항-사이노 CD38 mAb(n=3)보다 유의미하게 더 높은 효력을 나타내었다.
- [0687] 실시예 47: 항-사이노 CD38 Fc 작제물은 사이노몰구스 원숭이에서 항-사이노 CD38 mAb보다 우수한 CD38^고 B 세포 고갈을 보여준다.
- [0688] 결과가 도 36에 도시되어 있는 이러한 검정에서, S3A-AA-사이노는 사이노몰구스 원숭이로부터 수집한 말초 혈액에서의 B 세포 고갈에 의해 측정되는 시험관 내(좌측 패널) 및 4시간 후에 B 세포 고갈에 대해 조사되는 사이노몰구스 원숭이에서 단일 투여 PD 연구에서 측정되는 생체 내(우측 패널) 모두에서 항-사이노 CD38 mAb보다 더 우수하였다.
- [0689] 실시예 48: 항-CD38 Fc 작제물은 골수 형질 세포 부하가 높은 다발성 골수종 환자의 형질 세포의 더 우수한 고갈을 보여준다.
- [0690] 결과가 도 37에 도시되어 있는 이러한 검정에서, S3Y-AA-CD38은 동일한 Fab 서열을 갖는 항-CD38 mAb보다 더 우수하였다. BM 형질 세포 부하가 82%인 재발 환자인 다발성 골수종 환자 MM536의 동결 골수 단핵세포(BM-MNC)를 공급업체로부터 입수하였다. BM-MNC를 해동하고, 항-CD38 mAb 또는 S3Y-AA-CD38의 다양한 농도의 존재 또는 부재 하에 18시간 동안 RPMI 1640 + 20% 인간 혈청 보체(CDC 매개 세포 사멸을 허용하기 위해)에서 인큐베이션하였다. 다음날, 샘플을 염색하고 FACS로 분석하여 미처리 세포의 표현형에 의해 결정된 두 마커의 공발현을 기반으로 CD38 발현 현장/골수종 세포에 대한 대응 마커로 사용된 CD138+ 세포의 고갈을 평가하였다. 세포 고갈은

총 단일 세포 중 생존 가능한 CD138+ 세포 빈도를 사용하여 결정되었으며, 모든 상대적인 세포 빈도는 미처리 대조군에서 관찰된 기준선 빈도로 정규화하였다(0% 변화로 설정).

[0691] 환자 MM536의 총 BM-MNC에서 CD138+ 세포의 고갈은 100 또는 1000 nM에서 S3Y-AA-CD38 또는 항-CD38 mAb 처리 후 관찰된 반면에, 10 nM 농도에서 두 처리 모두에서 고갈이 관찰되지 않았다. 90% 초과 생존 가능한 CD138+ 세포의 포화 고갈이 100 또는 1000 nM의 S3Y-AA-CD38 농도에서 관찰되었다. 항-CD38 mAb-매개 고갈은 S3Y-AA-CD38에서 관찰된 것보다 상당히 낮았으며, 이때 100 및 1000 nM의 농도에서 최대 고갈 수준은 24%로 포화 상태이거나 거의 포화 상태인 것으로 보인다. 환자 MM536에서의 높은 BM 형질 세포 빈도(약 82%)를 고려하면, 이러한 결과는 임상 적용에서 항-CD38 mAb 처리에 대한 더 낮은 객관적인 반응을 갖는 것으로 나타나는 골수 형질 세포 부하가 높은 MM 환자에서 항-CD38 Fc 작제물을 사용하여 더 큰 반응에 대한 가능성을 나타낼 수 있다.

[0692] **실시예 48: 항-CD38 Fc 작제물은 세포 표면 FcγRs 및 인간 혈청 보체에 대한 강화된 결합을 보여준다**

[0693] 도 38a는 FcγRIIa, FcγRIIIa 및 보체에 결합하는 S3Y-AA-CD38이 항-CD38 mAb보다 적어도 100배 더 크다는 것을 보여주는 연구 결과를 도시한다.

[0694] 도 38b는 항-CD38 mAb보다 면역 세포 표면 상의 FcγRIIa, FcγRIIIa에 대한 S3Y-AA-CD38의 결합이 500X 초과로 강화되었으며, C1q 보체 단백질 결합이 12X 강화되었음을 보여주는 연구 결과를 도시한다.

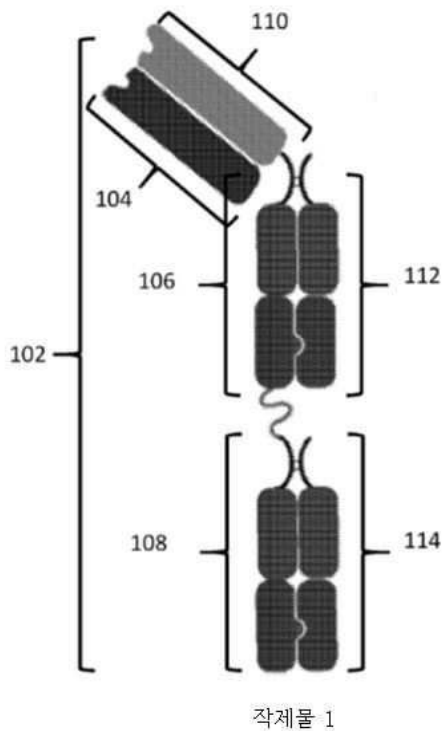
[0695] 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특히 및 특히 출원은 각각의 독립적인 간행물 또는 특히 출원이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로서 포함되는 것으로 나타내어진 것처럼 그와 같은 정도로 본원에 참조로서 포함된다.

[0696] 본 개시는 이의 구체적 구현예와 관련하여 기술되어 있지만, 추가의 변형이 가능하고 본 출원은 일반적으로 본 개시의 원리를 따르고 본 개시가 관련된 분야에 공지되거나 통상적인 관행에 속하고 상기 기술된 본질적 특징에 적용될 수 있는 본 개시에서부터의 이러한 변경을 포함하는 본 개시의 임의의 변형, 사용 또는 응용을 포함하도록 의도되며, 청구항의 범주를 따르는 것으로 이해될 것이다.

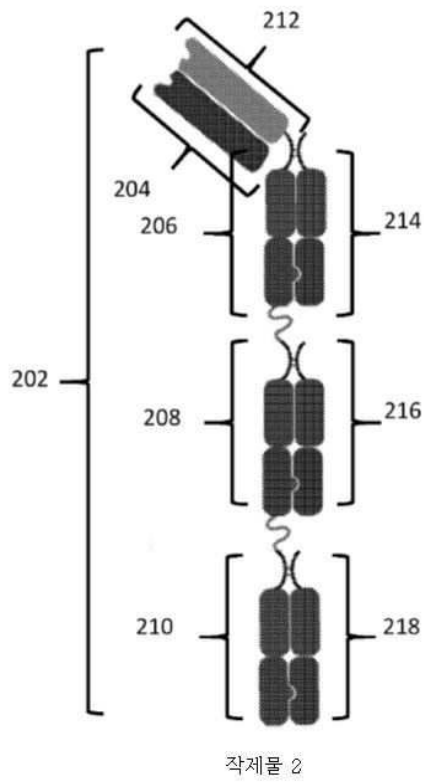
[0697] 다른 구현예는 청구 범위에 포함된다.

도면

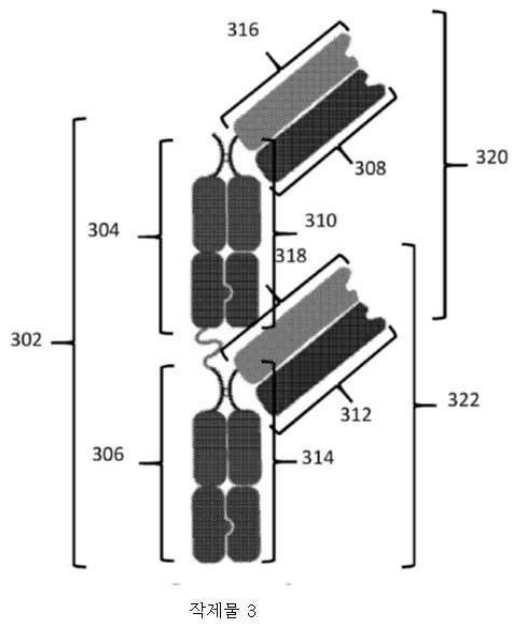
도면1



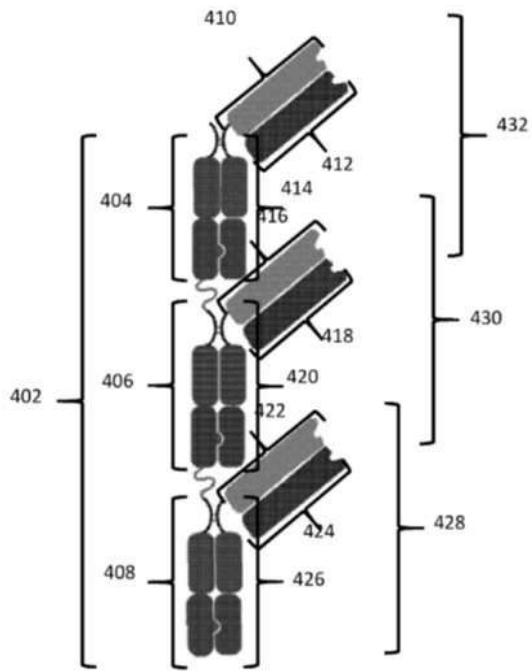
도면2



도면3

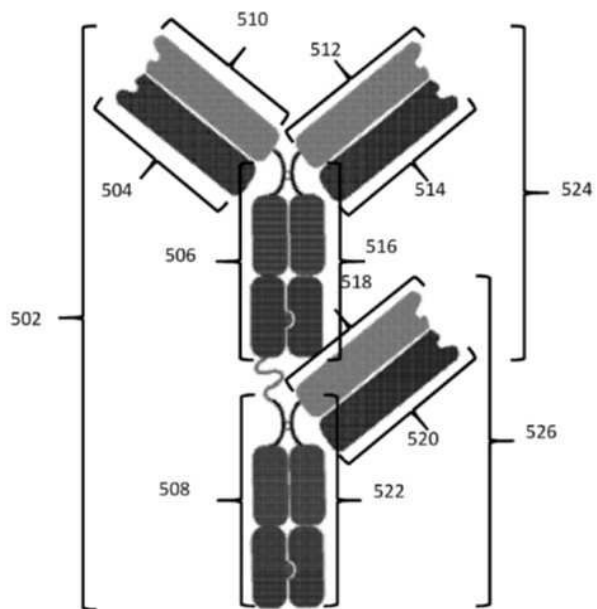


도면4



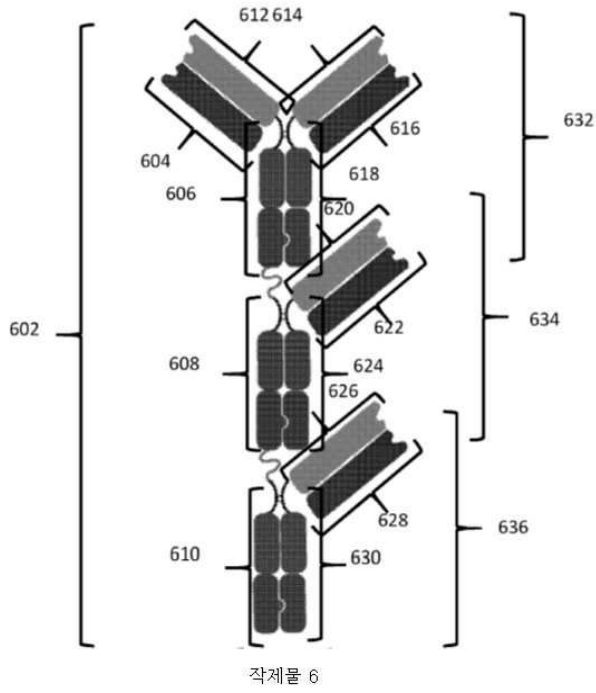
작제물 4

도면5

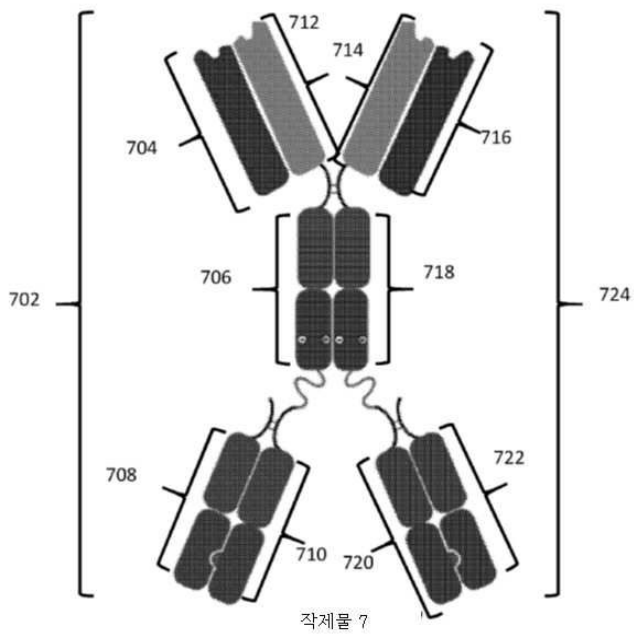


작제물 5

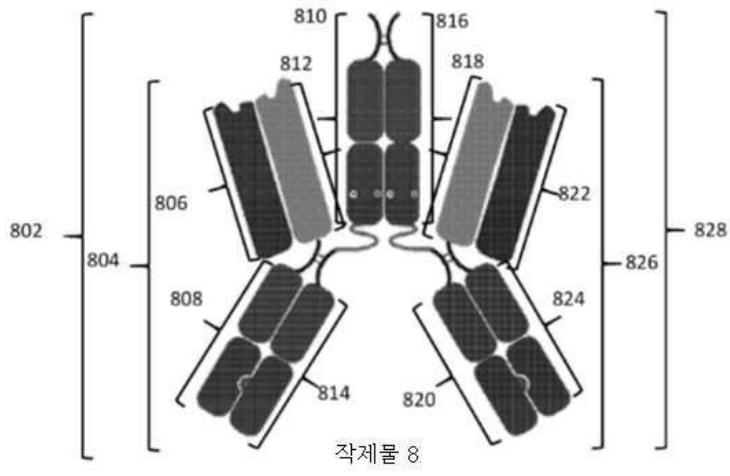
도면6



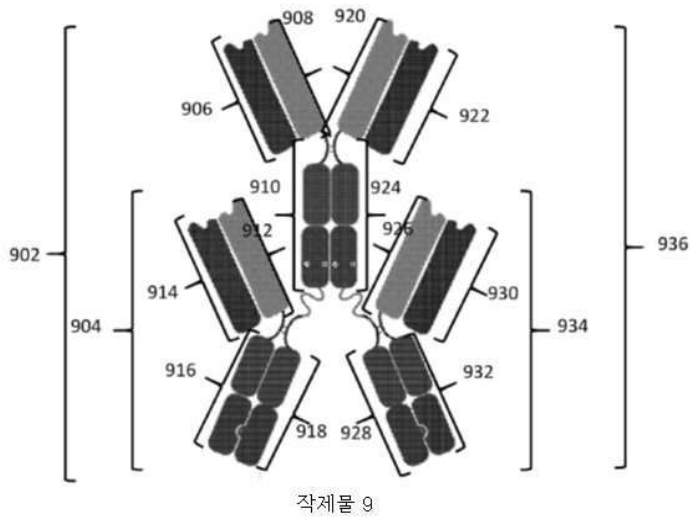
도면7



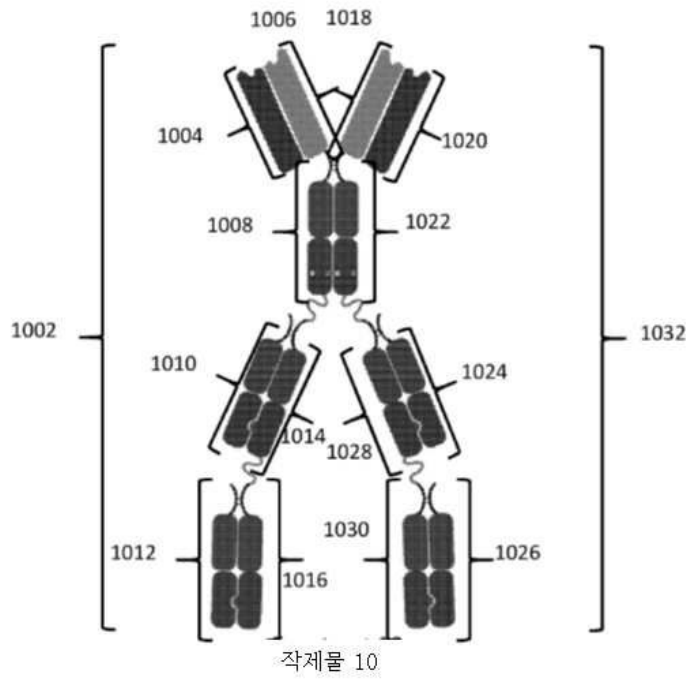
도면8



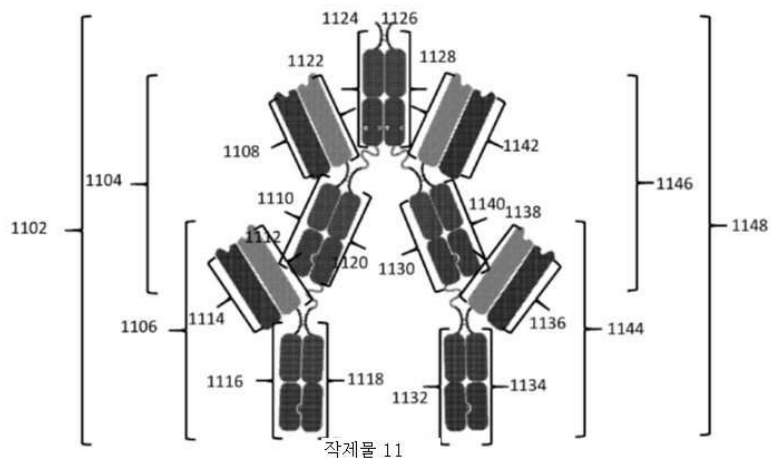
도면9



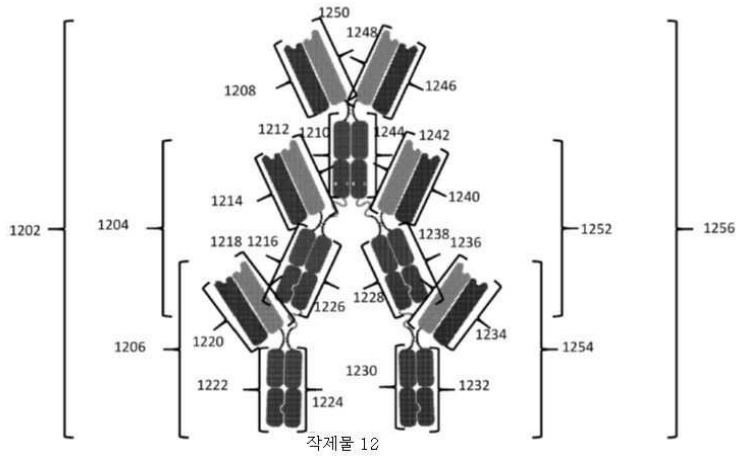
도면10



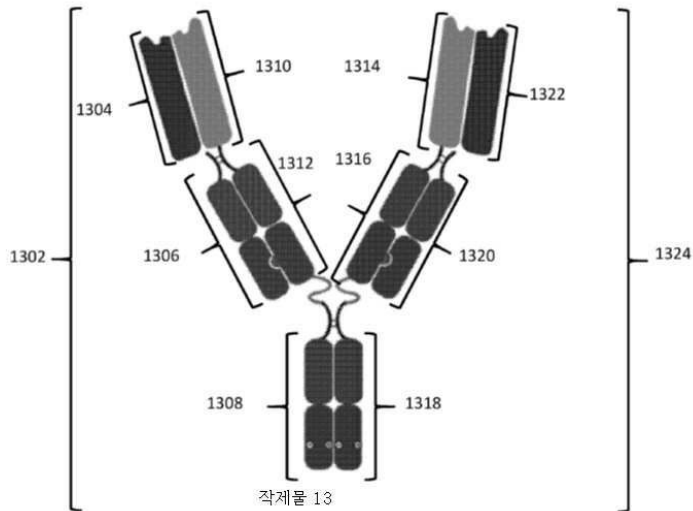
도면11



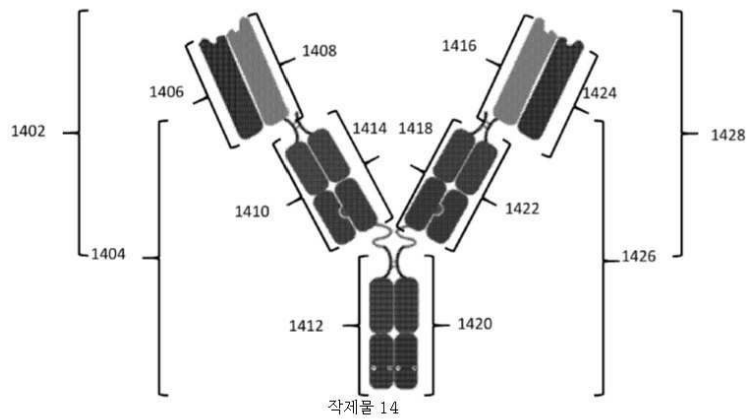
도면12



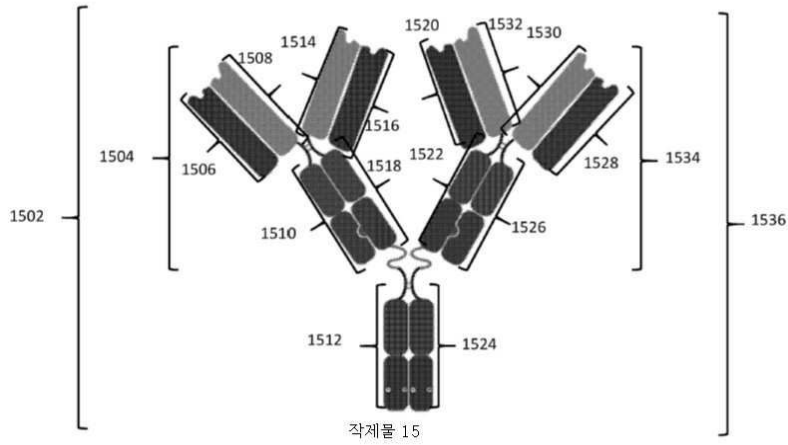
도면13



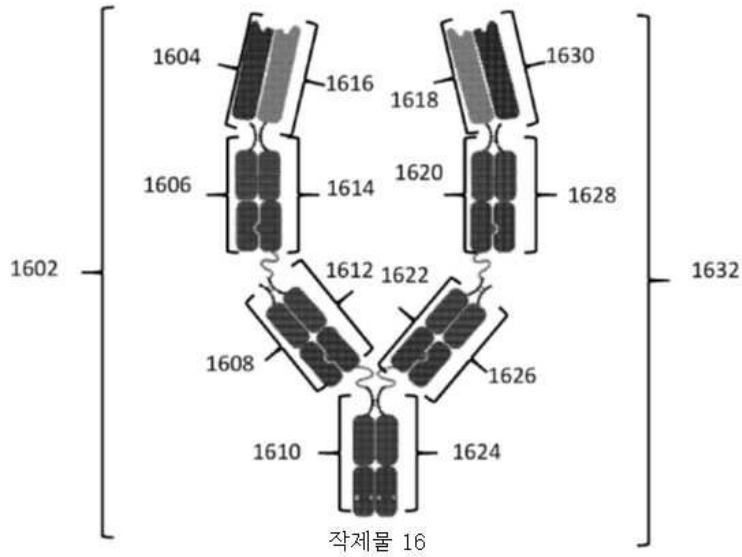
도면14



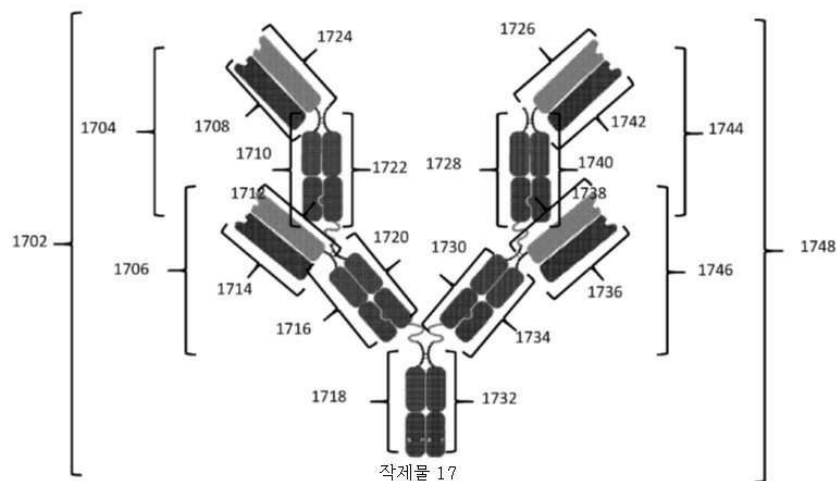
도면15



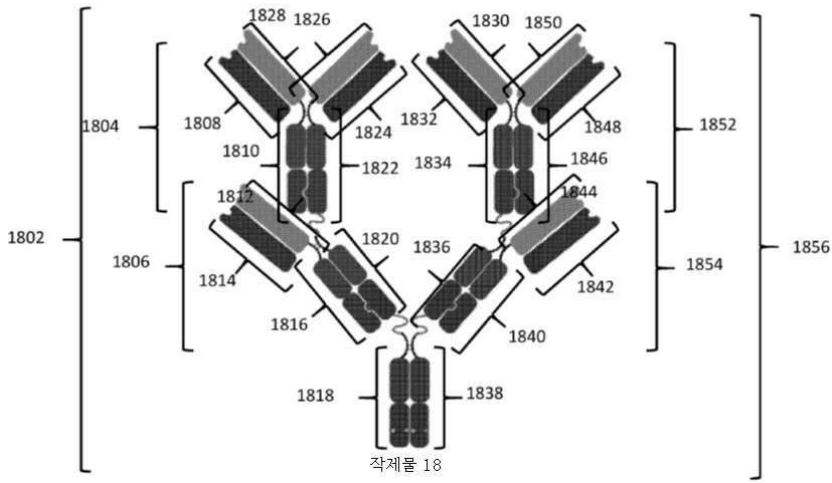
도면16



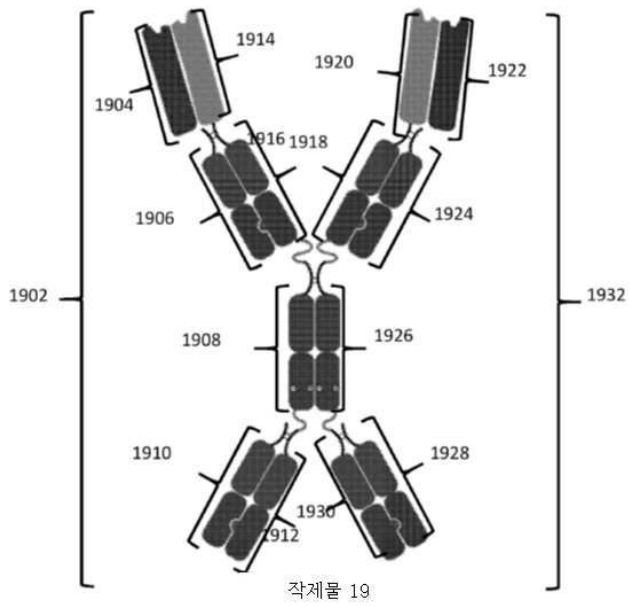
도면17



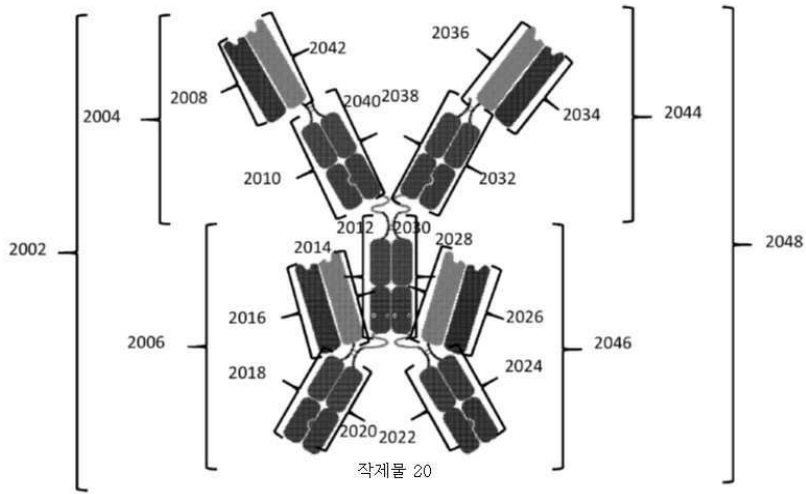
도면18



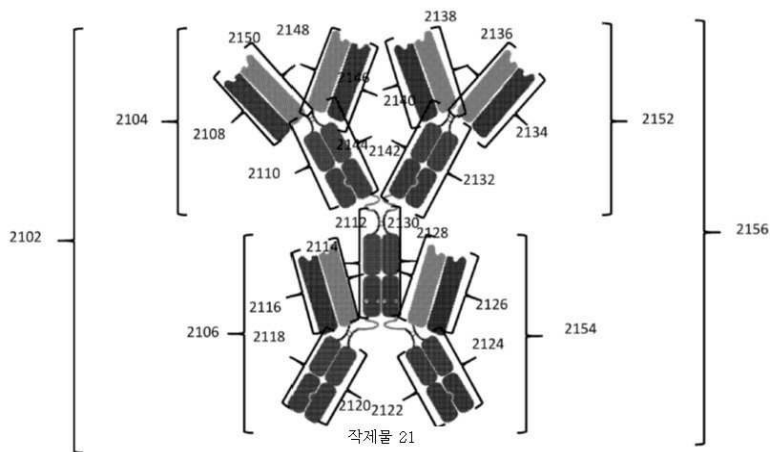
도면19



도면20



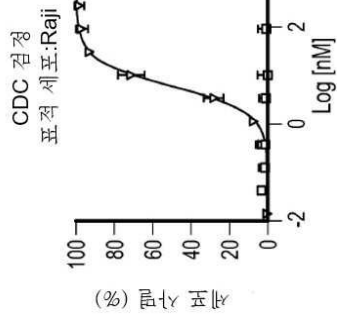
도면21



도면22

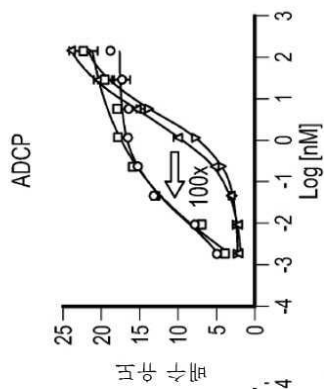
모체 의존성
세포 독성

- 항-CD20 mAb (탈푸코실화)
- 항-CD20 mAb (푸코실화)
- △ 항-CD20 S3Y
- ▽ 항-CD20 SAI



항체 의존성
세포 식균작용
FcyRIIIa 리포터 결정

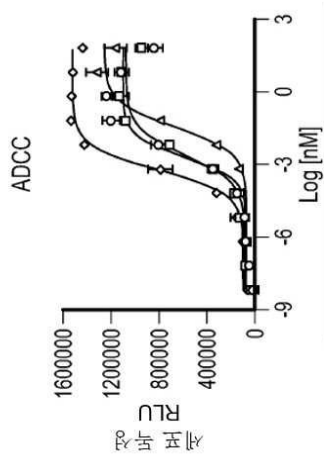
- 항-CD20 SAI
- 항-CD20 S3Y
- △ 항-CD20 mAb (푸코실화)
- ▽ 항-CD20 mAb (탈푸코실화)



효과기 (변경된 Jurkat): 표적 (Raji) 비율 2:1

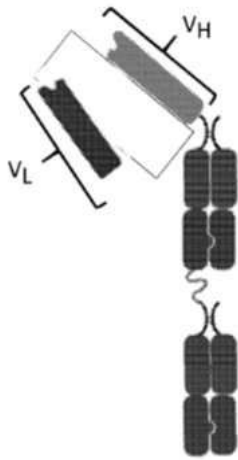
항체 의존성
세포 독성

- 항-CD20 SAI
- 항-CD20 S3Y
- △ 항-CD20 mAb (푸코실화)
- ▽ 항-CD20 mAb (탈푸코실화)

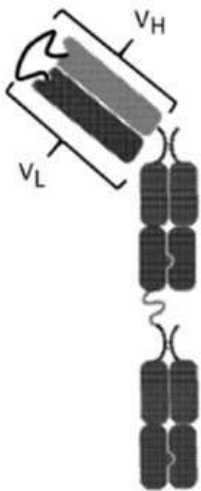


표적: NK Hemacare
lot#15104464

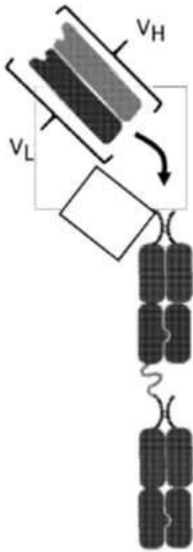
도면23a



도면23b



도면23c



도면24a

216 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280 (서열번호 43)
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344
 345 EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK 409
 410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

도면24b

221 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280 (서열번호 45)
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344
 345 EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK 409
 410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446

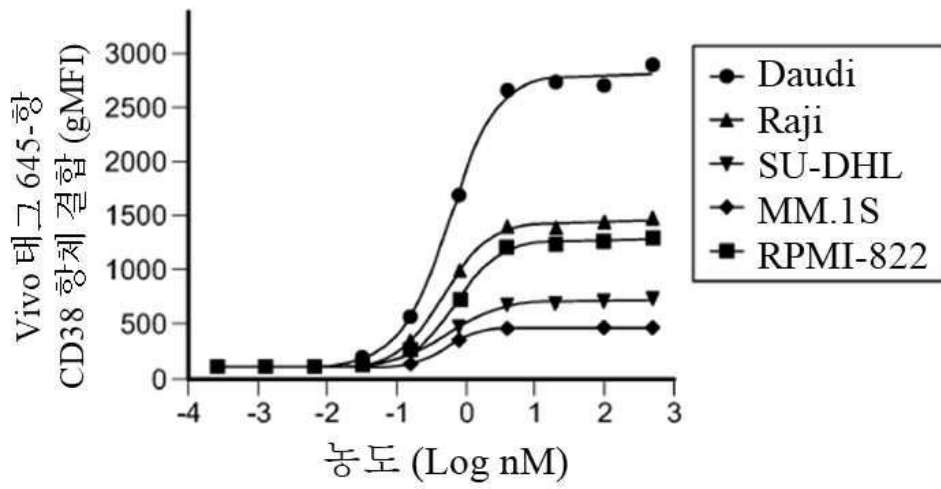
도면24c

216 EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280 (서열번호 47)
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344
 345 EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK 409
 410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446

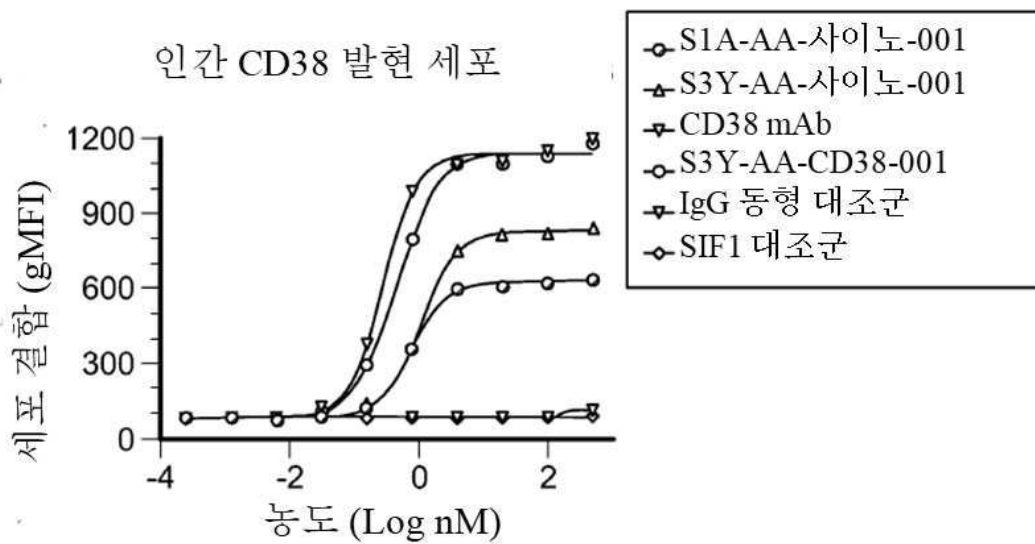
도면24d

221 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD 280 (서열번호 42)
 281 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR 344
 345 EPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK 409
 410 LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447

도면25

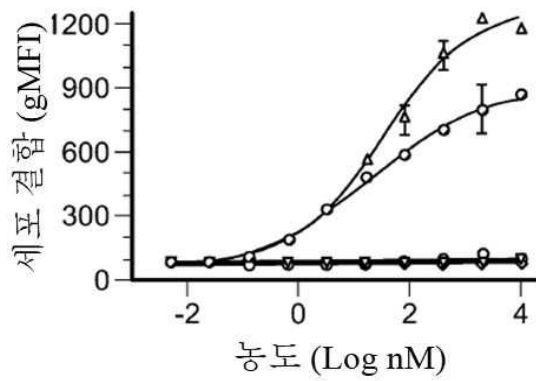


도면26a



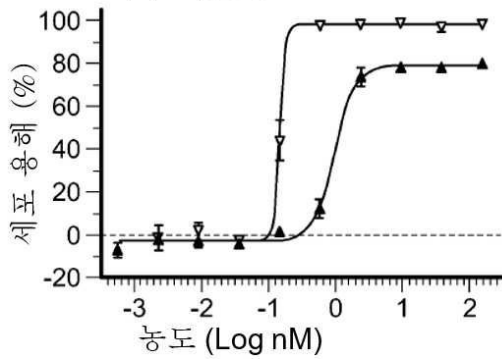
도면26b

사이노 CD38 발현 세포



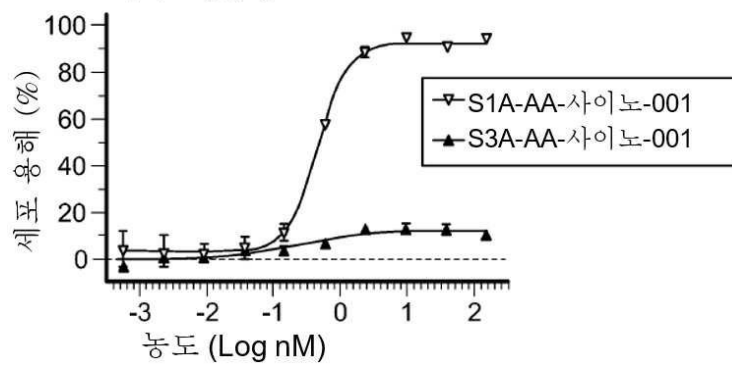
도면27a

Daudi 세포:
사이노 혈청 중 CDC

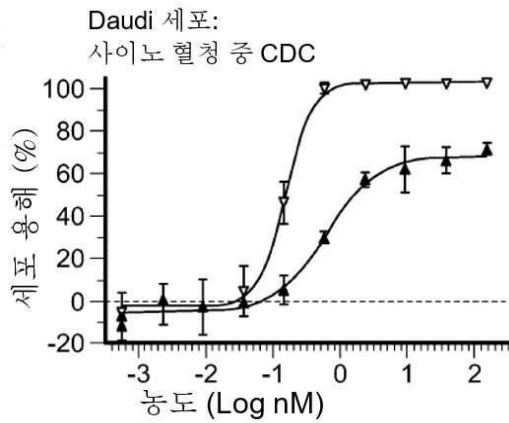


도면27b

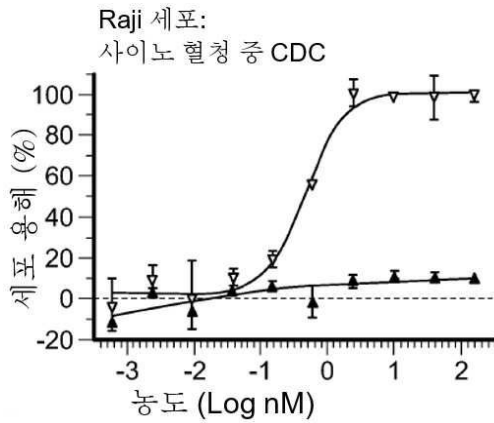
Raji 세포:
사이노 혈청 중 CDC



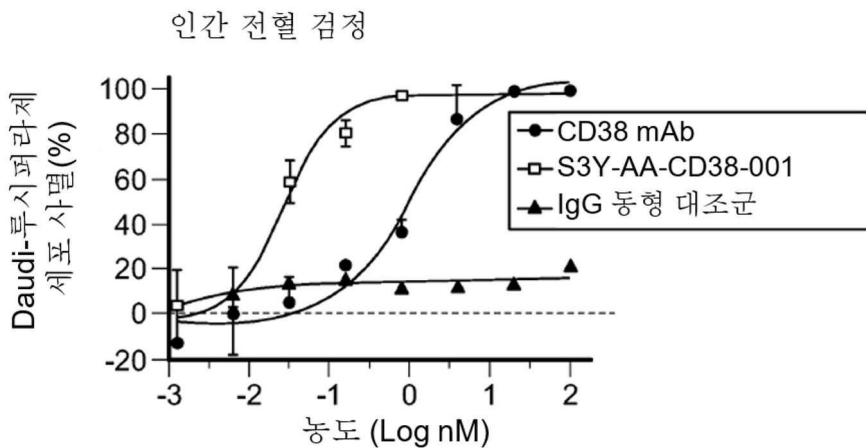
도면27c



도면27d

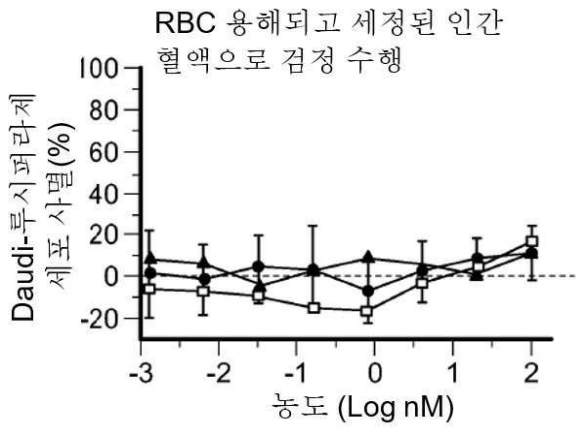


도면28a

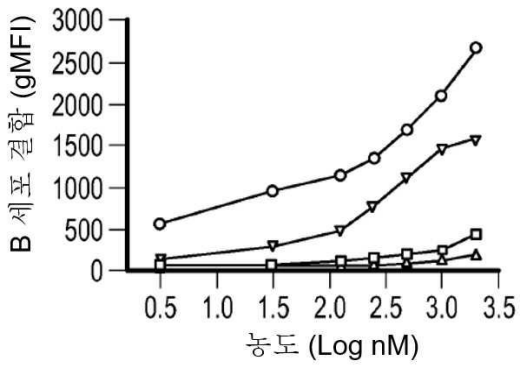
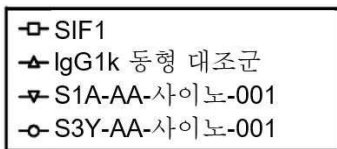


인간 혈액 공여자	CD38 mAb (EC50 nM)	S3Y-AA-CD38-001 (EC50 nM)
H02	0.579	0.05513
K50	6.192	0.4602
M116	0.9974	0.02707

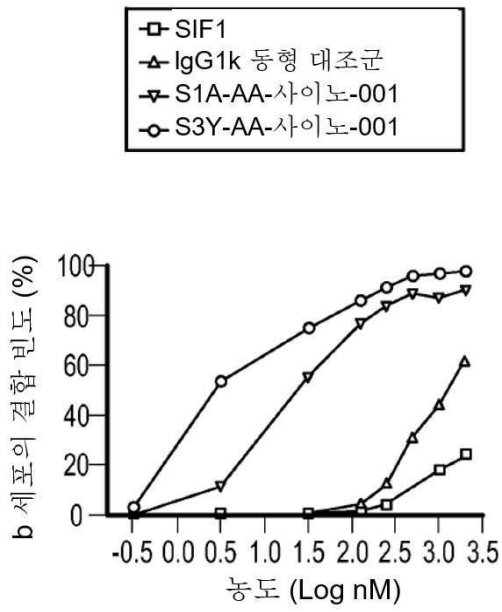
도면28b



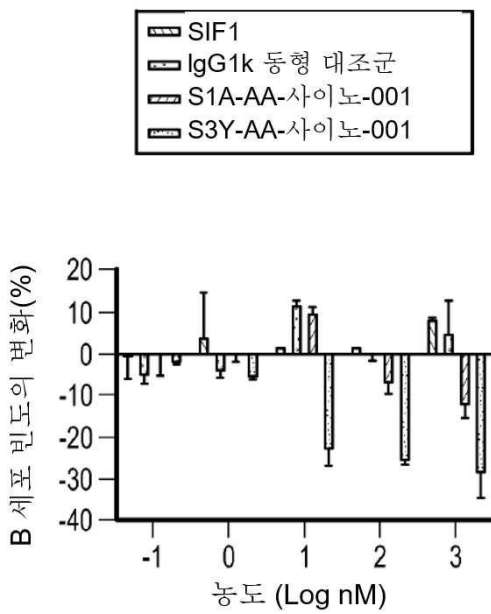
도면29a



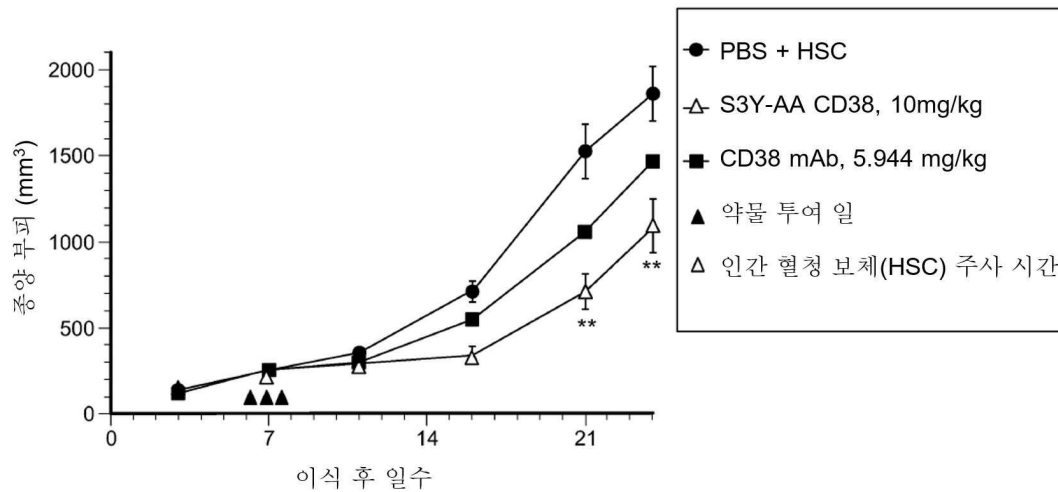
도면29b



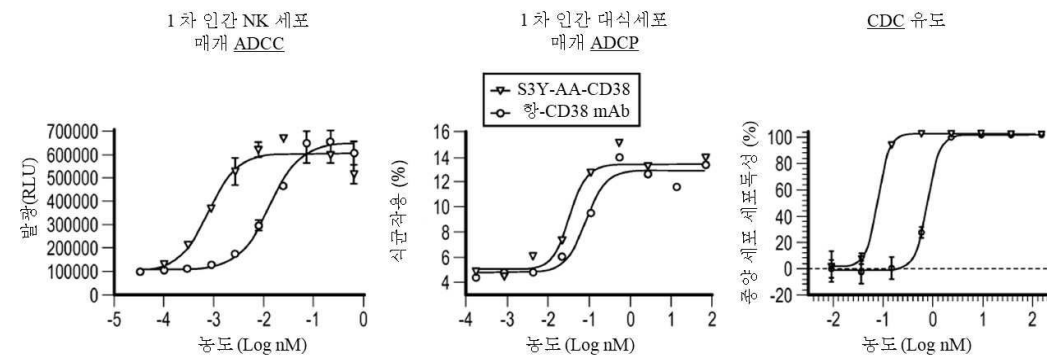
도면29c



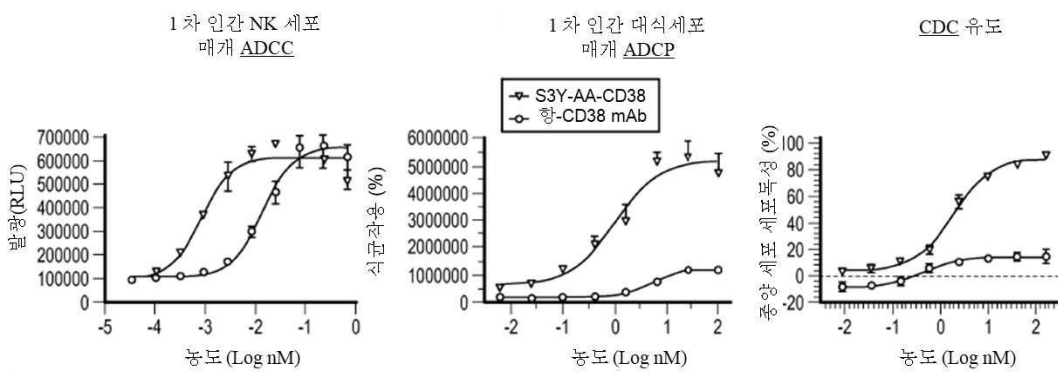
도면30



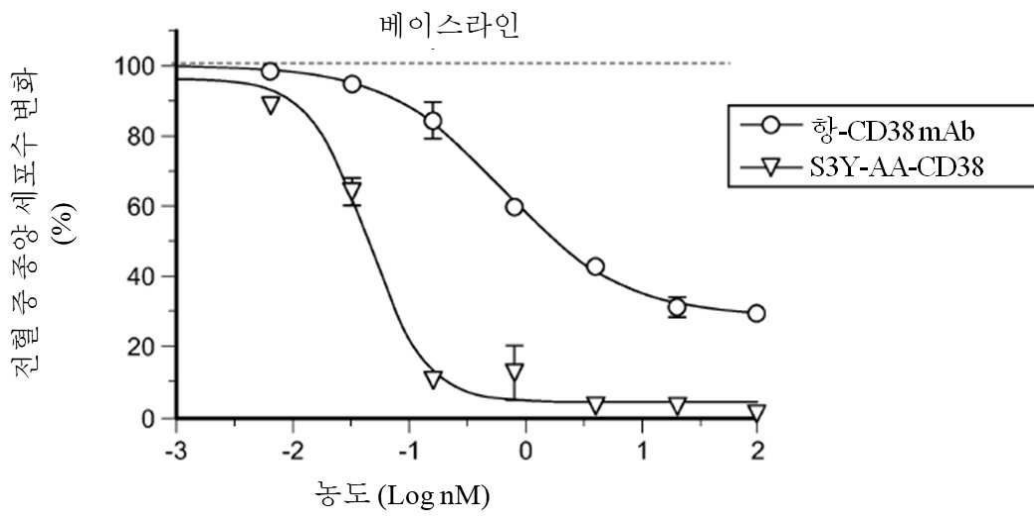
도면31a



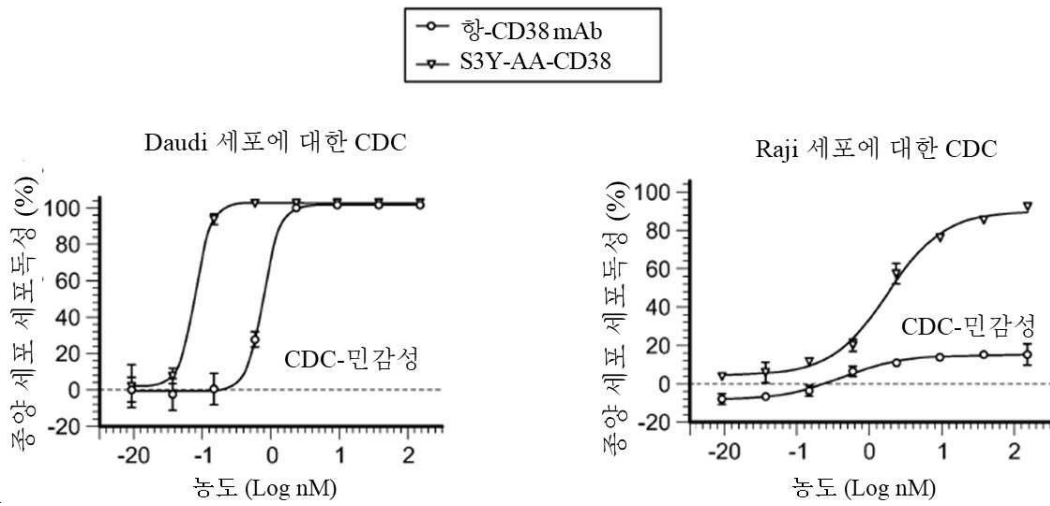
도면31b



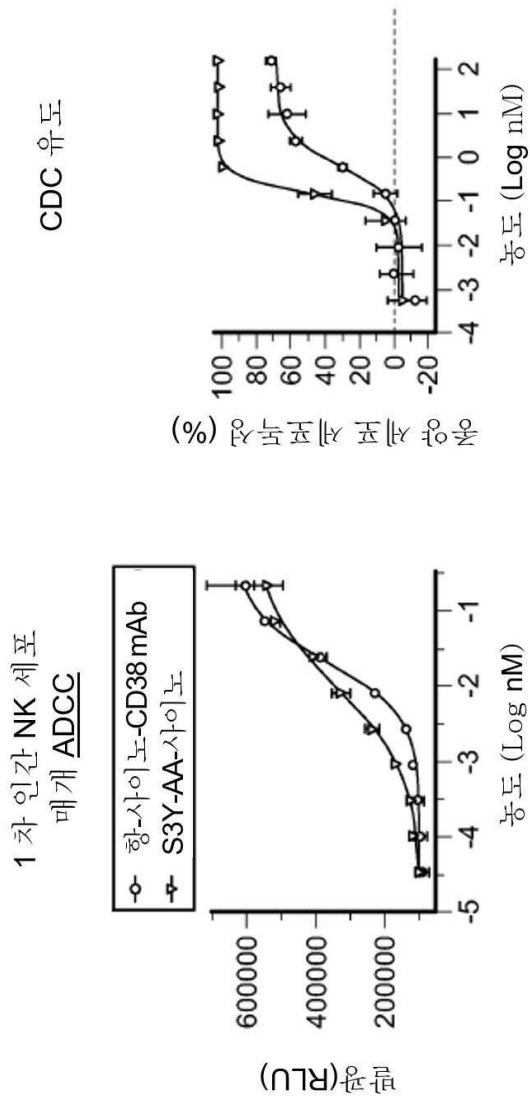
도면32



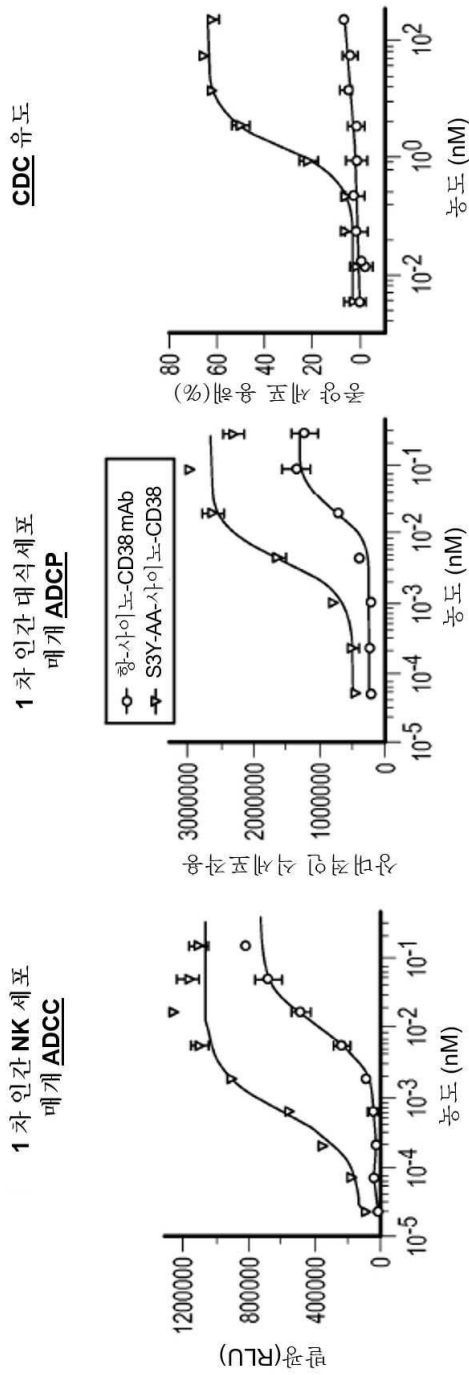
도면33



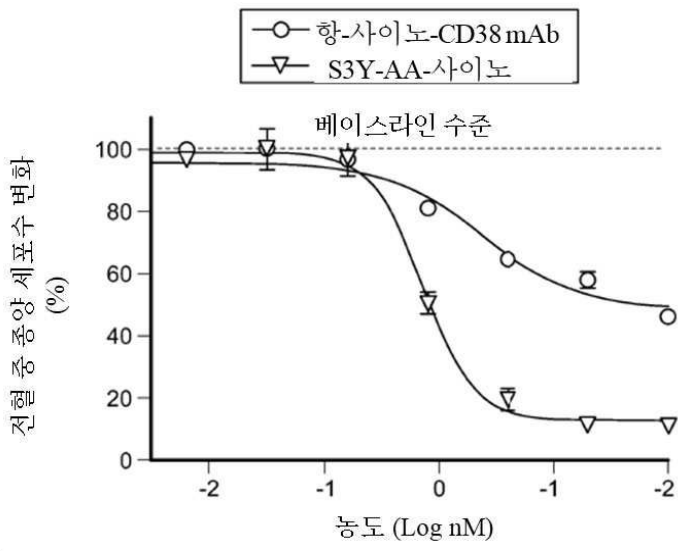
도면34a



도면34b



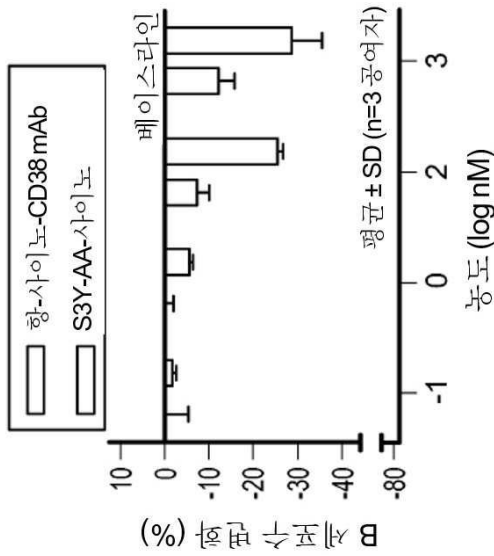
도면35



도면36

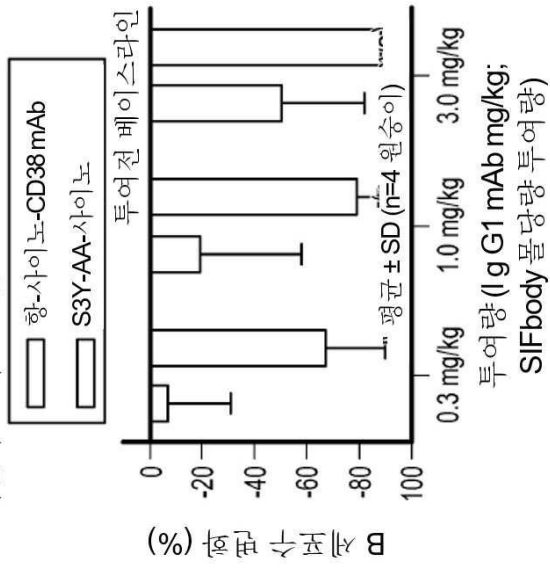
시험관내

사이노물구스원숭이에서 수집한
말초 혈액의 B 세포 고갈

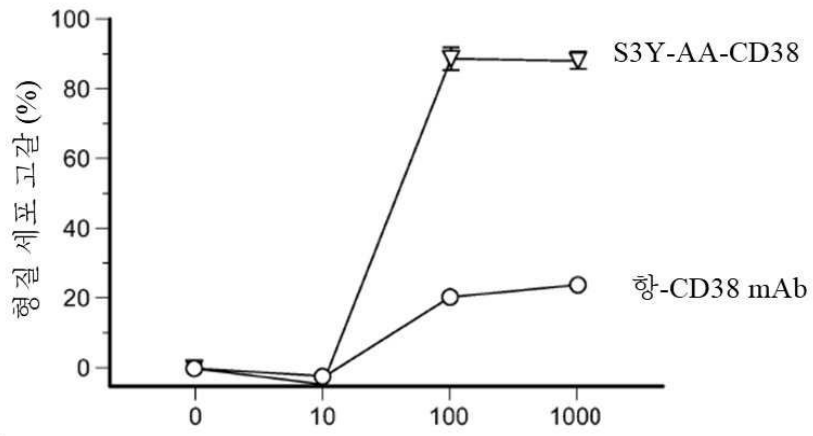


시험관내

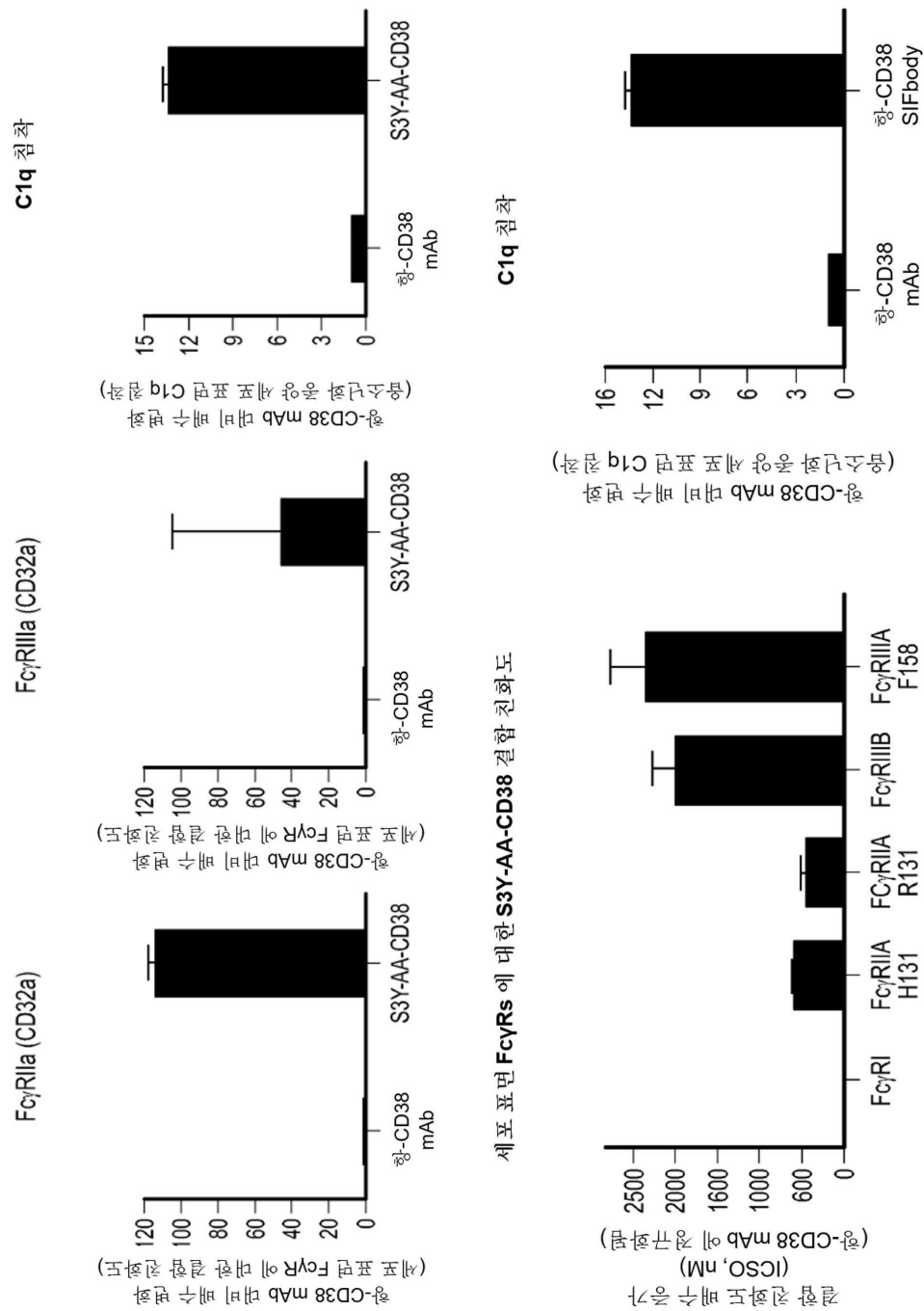
사이노물구스원숭이에서의 단일 투여 PD 연구:
4 시간 후 B 세포 고갈



도면37



도면38a



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MOMENTA PHARMACEUTICALS, INC.

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

BINDING DOMAIN CONSTRUCTS TARGETED TO CD38

<130> 14131-0189W01

<140> PCT/US2019/041468

<141> 2019-07-11
<150> 62/744,067
<151> 2018-10-10
<150> 62/733,036
<151> 2018-09-18
<150> 62/696,759
<151> 2018-07-11
<160> 294
<170> KoPatentIn 3.0
<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 1
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5
<210> 2
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 2
Gly Gly Ser Gly
1
<210> 3
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 3
Ser Gly Gly Gly

1

<210> 4

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 4

Gly Ser Gly Ser

1

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 5

Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1

5

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 6

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1

5

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

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

peptide

<400> 7

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 8

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

1 5 10

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 9

Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 10

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 11

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

1 5 10

<210> 12

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 12

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 13

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

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

1 5 10

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 14

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

1 5 10 15

<210> 15

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 15

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

1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly

20

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 16

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 17

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

1 5 10 15

<210> 18

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly

20

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 19

Gly Gly Gly Gly

1

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 20

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 21

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 22

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

1 5 10 15

<210> 23

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 23

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 24

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 26

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

1 5 10 15

<210> 27

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 27

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 28

Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly

1 5 10
<210> 29
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 29
Ser Ala Cys Tyr Cys Glu Leu Ser

1 5
<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 30
Arg Ser Ile Ala Thr

1 5
<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide

<400> 31
Arg Pro Ala Cys Lys Ile Pro Asn Asp Leu Lys Gln Lys Val Met Asn

1 5 10 15
His

<210> 32
<211> 36
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 32

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Thr Gly Ser Gly

 35

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 33

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

1 5 10 15

Arg

<210> 34

<211> 36

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 34

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

Gly Gly Gly Ser

35

<210> 35

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

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

1 5 10

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 36

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

1 5 10 15

Gly Ser

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Description of Unknown:
albumin binding peptide

<400> 37

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp

1 5 10

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

6xHis tag

<400> 38

His His His His His His

1 5

<210> 39

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 39

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 40

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 41

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 42

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

180 185 190

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

195 200 205

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

Pro Gly Lys
 225

<210> 43

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

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

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 35 40 45

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

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 100 105 110

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

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

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 44

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

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

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

 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly
 225
 <210> 46
 <211> 226
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 46
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

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

35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

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

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

 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly
 225
 <210> 47
 <211> 231
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 47

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

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

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

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

 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 225 230

<210> 48

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Asp Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly
 225
 <210> 49
 <400> 49
 000

 <210> 50
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 50
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

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

 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys

225

<210> 51

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys

225

<210> 52

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 52

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

1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

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

50 55 60

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140
 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220
 Pro Gly Lys
 225
 <210> 54
 <400> 54
 000

<210> 55

<400> 55

000

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<400> 60

000

<210> 61

<400> 61

000

<210> 62

<400> 62

000

<210> 63

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 63

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

1

5

10

15

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

000

<210> 66

<400> 66

000

<210> 67

<400> 67

000

<210> 68

<400> 68

000

<210> 69

<400> 69

000

<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<211> 945

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 71

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

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

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

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

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

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 580 585 590
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
 595 600 605
 Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 610 615 620
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 625 630 635 640

 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 645 650 655
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 660 665 670
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 675 680 685
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly
 690 695 700

 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp
 705 710 715 720
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 725 730 735
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 740 745 750
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 755 760 765

 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 770 775 780
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 785 790 795 800
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 805 810 815
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

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

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

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

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

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 450 455 460

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 465 470 475 480

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 485 490 495

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 500 505 510

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 515 520 525

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

530 535 540
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 545 550 555 560
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 565 570 575

 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 580 585 590
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
 595 600 605
 Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 610 615 620
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 625 630 635 640

 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 645 650 655
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 660 665 670
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 675 680 685
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly
 690 695 700

 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp
 705 710 715 720
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 725 730 735
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 740 745 750
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 755 760 765

 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 770 775 780

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 785 790 795 800
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 805 810 815
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 820 825 830

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 835 840 845
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 850 855 860
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 865 870 875 880
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 885 890 895

Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp
 900 905 910
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 915 920 925
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 930 935 940

Gly

945

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<400> 80

000

<210> 81

<400> 81

000

<210> 82

<400> 82

000

<210> 83

<400> 83

000

<210> 84

<400> 84

000

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 85

Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Ala

1

5

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 86

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Trp

1 5

<210> 87

<400> 87

000

<210> 88

<400> 88

000

<210> 89

<400> 89

000

<210> 90

<400> 90

000

<210> 91

<400> 91

000

<210> 92

<400> 92

000

<210> 93

<400> 93

000

<210> 94

<400> 94

000

<210> 95

<400> 95

000

<210> 96
<400> 96
000
<210> 97
<400> 97
000
<210> 98
<400> 98
000
<210> 99
<400> 99
000
<210> 100
<400> 100
000
<210> 101
<400> 101

000
<210> 102
<400> 102
000
<210> 103
<400> 103
000
<210> 104
<400> 104
000
<210> 105
<400> 105
000
<210> 106
<400> 106
000
<210> 107

<400> 107

000

<210> 108

<400> 108

000

<210> 109

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 109

Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr

1 5

<210> 110

<400> 110

000

<210> 111

<400> 111

000

<210> 112

<400> 112

000

<210> 113

<400> 113

000

<210> 114

<400> 114

000

<210> 115

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 115

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr

1 5

<210> 116

<400> 116

000

<210> 117

<400> 117

000

<210> 118

<400> 118

000

<210> 119

<400> 119

000

<210> 120

<400> 120

000

<210> 121

<400> 121

000

<210> 122

<400> 122

000

<210> 123

<400> 123

000

<210> 124

<400> 124

000

<210> 125

<400> 125

000

<210> 126
<400> 126
000
<210> 127
<400> 127
000
<210> 128
<400> 128
000
<210> 129
<400> 129
000
<210> 130
<400> 130
000
<210> 131
<400> 131
000
<210> 132
<400> 132
000
<210> 133
<400> 133
000
<210> 134
<400> 134
000
<210> 135
<400> 135
000
<210> 136
<400> 136
000
<210> 137
<400> 137
000

<210> 138

<400> 138

000

<210> 139

<400> 139

000

<210> 140

<400> 140

000

<210> 141

<400> 141

000

<210> 142

<400> 142

000

<210> 143

<400> 143

000

<210> 144

<400> 144

000

<210> 145

<400> 145

000

<210> 146

<400> 146

000

<210> 147

<400> 147

000

<210> 148

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 148

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 149

<211> 13

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 149

Ala Arg Gly Asp Tyr Tyr Gly Ser Asn Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 150

<400> 150

000

<210> 151

<400> 151

000

<210> 152

<400> 152

000

<210> 153

<400> 153

000

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<400> 155

000

<210> 156

<400> 156

000

<210> 157

<400> 157

000

<210> 158

<400> 158

000

<210> 159

<400> 159

000

<210> 160

<400> 160

000

<210> 161

<400> 161

000

<210> 162

<400> 162

000

<210> 163

<400> 163

000

<210> 164

<400> 164

000

<210> 165

<400> 165

000

<210> 166

<400> 166

000

<210> 167

<400> 167

000

<210> 168
<400> 168
000
<210> 169
<400> 169
000
<210> 170
<400> 170
000
<210> 171
<400> 171
000
<210> 172
<400> 172
000
<210> 173
<400> 173
000
<210> 174
<400> 174
000
<210> 175
<400> 175
000
<210> 176
<400>
> 176
000
<210> 177
<400> 177
000
<210> 178
<400> 178
000
<210> 179

<400> 179

000

<210> 180

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 180

Gln Ser Val Ser Ser Tyr

1 5

<210> 181

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 181

Gln Asp Val Ser Thr Val

1 5

<210>

182

<400> 182

000

<210> 183

<400> 183

000

<210> 184

<400> 184

000

<210> 185

<400> 185

000

<210> 186

<400> 186

000

<210> 187

<400> 187

000

<210> 188

<400> 188

000

<210> 189

<400> 189

000

<210> 190

<400> 190

000

<210> 191

<400> 191

000

<210> 192

<400> 192

000

<210> 193

<400> 193

000

<210> 194

<400> 194

000

<210> 195

<400> 195

000

<210> 196

<400> 196

000

<210> 197

<400> 197

000

<210> 198

<400> 198

000

<210> 199

<400> 199

000

<210> 200

<400> 200

000

<210> 201

<400> 201

000

<210> 202

<400> 202

000

<210> 203

<400> 203

000

<210> 204

<400> 204

000

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<400> 206

000

<210> 207

<400> 207

000

<210> 208

<400> 208

000

<210> 209

<400> 209

000

<210> 210
<400> 210
000
<210> 211
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 211
Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro Thr

1 5

<210> 212
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide

<400> 212
Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 213
<211> 32
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide

<400> 213
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 214

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 4-30 residues

<400> 214

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210> 215

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 8-30 residues

<400> 215

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210> 216

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(30)

<223> This sequence may encompass 12-30 residues

<400> 216

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

<210> 217

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 4-20 residues

<400> 217

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

 20

<210> 218

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 8-20 residues

<400> 218

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 219

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(20)

<223> This sequence may encompass 12-20 residues

<400> 219

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly

20

<210> 220

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 220

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu

20

<210> 221

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 221

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

1 5 10 15

<210> 222

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 222

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

1 5 10 15

Pro Glu Leu

<210> 223

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 223

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 100 105

<210> 224

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 224

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

100 105

<210> 225

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 225

Ser Tyr Tyr Met Asn

1 5
<210> 226
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<400> 226
Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 227
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<400> 227
Asp Leu Pro Leu Val Tyr Thr Gly Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 228
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<400> 228
Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val Tyr
1 5 10
<210> 229
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 229

Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 230

Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser

1 5

<210> 231

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 231

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Met Gln Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met His Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

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

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

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

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415

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

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

Gly Lys
 450

<210> 232

<211> 118

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 232

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

Ser Gly Ile Ser Gly Asp Pro Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

Gly Thr Leu Val Thr Val
 115

<210> 233

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 233

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

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

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 234

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 234

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Leu Arg His Tyr Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Thr Gly Gly Ala Ser Leu

85 90 95

Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105

<210> 235

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 4-200 residues

<400> 235

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 236

<211> 180

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(180)

<223> This sequence may encompass 4-180 residues

<400> 236

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
130 135 140

<210> 239

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(40)

<223> This sequence may encompass 4-40 residues

<400> 239

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

20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40

<210> 240

<211> 100

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(100)

<223> This sequence may encompass 4-100 residues

<400> 240

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

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
20 25 30

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

35 40 45
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

50 55 60
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95

Gly Gly Gly Gly
 100

<210> 241

<211> 90

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(90)

<223> This sequence may encompass 4-90 residues

<400> 241

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

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90

<210> 242

<211> 80

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(80)

<223> This sequence may encompass 4-80 residues

<400> 242

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

<210> 243

<211> 70

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(70)

<223> This sequence may encompass 4-70 residues

<400> 243

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70

<210> 244

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(60)

<223> This sequence may encompass 4-60 residues

<400> 244

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

<210> 245

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(50)

<223> This sequence may encompass 4-50 residues

<400> 245

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Gly

50

<210> 246

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(19)

<223> This sequence may encompass 4-19 residues

<400> 246

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

1 5 10 15

Gly Gly Gly

<210> 247

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(18)

<223> This sequence may encompass 4-18 residues

<400> 247

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

1 5 10 15

Gly Gly

<210> 248

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(17)

<223> This sequence may encompass 4-17 residues

<400>

248

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

1 5 10 15

Gly

<210> 249

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(16)

<223> This sequence may encompass 4-16 residues

<400> 249

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

1 5 10 15

<210> 250

<211> 15

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(15)
<223> This sequence may encompass 4-15 residues
<400> 250
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

<210> 251
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<220><
221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> This sequence may encompass 4-14 residues
<400> 251
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 252
<211> 13
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(13)
<223> This sequence may encompass 4-13 residues
<400> 252
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10
<210> 253
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> This sequence may encompass 4-12 residues
<400> 253

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

1 5 10
<210> 254
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> This sequence may encompass 4-11 residues
<400> 254

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10
<210> 255
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> This sequence may encompass 4-10 residues

<400> 255

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(9)

<223> This sequence may encompass 4-9 residues

<400> 256

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 257

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(8)

<223> This sequence may encompass 4-8 residues

<400> 257

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 258

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(7)

<223> This sequence may encompass 4-7 residues

<400> 258

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 259

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(6)

<223> This sequence may encompass 4-6 residues

<400> 259

Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 260

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> This sequence may encompass 4-5 residues

<400> 260

Gly Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 261

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 6-200 residues

<400> 261

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

165 170 175
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
195 200

<210> 263
<211> 200
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(200)
<223> This sequence may encompass 10-200 residues
<400> 263

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

20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
50 55 60
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

130 135 140
 Gly

145 150 155 160
 Gly

165 170 175
 Gly

180 185 190
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200
 <210> 264

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 12-200 residues

<400> 264

Gly
 1 5 10 15

Gly
 20 25 30

Gly
 35 40 45

Gly
 50 55 60

Gly
 65 70 75 80

Gly
 85 90 95

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 266

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 16-200 residues

<400> 266

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 267

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 18-200 residues

<400> 267

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

 195 200

<210> 268

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 20-200 residues

<400> 268

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

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 195 200

<210> 269

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 30-200 residues

<400> 269

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 165 170 175
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 180 185 190

 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 195 200
 <210> 271
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(200)
 <223> This sequence may encompass 50-200 residues
 <400> 271
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

65 70 75 80
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 180 185 190
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 195 200

<210> 273
<211> 200
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(200)
<223> This sequence may encompass 70-200 residues
<400> 273

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

1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5 10 15
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 195 200

<210> 275

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 90-200 residues

<400> 275

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

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

 50 55 60

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

65 70 75 80

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

 85 90 95

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

 100 105 110

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

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

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

 180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

 195 200

<210> 276

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 100-200 residues

<400> 276

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

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 50 55 60

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 65 70 75 80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 85 90 95

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 100 105 110

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 165 170 175

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 277

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 120-200 residues

<400> 277

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 278

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 140-200 residues

<400

> 278

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 280

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(200)

<223> This sequence may encompass 180-200 residues

<400> 280

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

195 200

<210> 282

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 282

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

20

<210> 283

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 283

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Glu Gln Lys Leu Ile Ser

1 5 10 15

Glu Glu Asp Leu Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

20 25 30

<210> 284

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 284

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp

1 5 10 15

Tyr Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

20 25

<210> 285

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 285

Glu Ile Val Leu 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 Tyr

 20 25 30

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

 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Pro

 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> 286

<211> 697

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 286

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

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

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

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

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

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

 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu 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 Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp 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 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

450 455 460
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 465 470 475 480
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 485 490 495
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 500 505 510

 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 515 520 525
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 530 535 540
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 545 550 555 560
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 565 570 575

 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 580 585 590
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys
 595 600 605
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 610 615 620
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 625 630 635 640

 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 645 650 655
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 660 665 670
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 675 680 685
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 690 695
 <210> 287

<211> 216

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 287

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn

 20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

 35 40 45

Ile Tyr Arg Asp Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu

 85 90 95

Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

 100 105 110

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

 115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

 130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

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

 165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

 180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240

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

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

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

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

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

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

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

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

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

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

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

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

 450 455 460
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 465 470 475 480
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 485 490 495
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 500 505 510
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

 515 520 525
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 530 535 540
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 545 550 555 560
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 565 570 575
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

 580 585 590
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 595 600 605
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 610 615 620
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 625 630 635 640
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe

 645 650 655
 Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 660 665 670

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 675 680 685

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 690 695

<210> 289
 <211> 697
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 289

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

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

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 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 450 455 460

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 465 470 475 480

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 485 490 495

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 500 505 510

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 515 520 525

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 530 535 540

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 545 550 555 560

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 565 570 575

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 580 585 590

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 595 600 605

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 610 615 620

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 625 630 635 640

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 645 650 655

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

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

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

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

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

 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys
 370 375 380
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 405 410 415
 420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys
 485 490 495

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 500 505 510

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 515 520 525

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 530 535 540

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 545 550 555 560

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 565 570 575

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 580 585 590

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 595 600 605

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 610 615 620

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
 625 630 635 640

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 645 650 655

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 660 665 670

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 675 680 685

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 690 695 700

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 705 710 715 720

<210> 291
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 291

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Lys Asp Lys Ile Leu Trp Phe Gly Glu Pro Val Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

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

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

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys
 370 375 380

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 405 410 415

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 420 425 430

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 435 440 445

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 450 455 460

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 465 470

<210> 293

<211> 698

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 293

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80

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

325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
 Pro Val Leu Lys Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asp Leu Thr

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

420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445
 Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

450 455 460
 Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

465 470 475 480
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

485 490 495
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

500 505 510
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

515 520 525
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

530 535 540
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

545 550 555 560
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

565 570 575

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 580 585 590

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
 595 600 605

Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 610 615 620

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 625 630 635 640

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 645 650 655

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 660 665 670

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 675 680 685

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 690 695

<210> 294
 <211> 945
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide
 <400> 294

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe
 20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

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

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

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365

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

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

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

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

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

Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 450 455 460

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 465 470 475 480

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 485 490 495

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 500 505 510

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 515 520 525

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 530 535 540

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 545 550 555 560

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

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 820 825 830
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 835 840 845

 Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Lys Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 850 855 860
 Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 865 870 875 880
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 885 890 895
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 900 905 910

 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 915 920 925
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 930 935 940
 Gly
 945