



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년05월17일
(11) 등록번호 10-2252119
(24) 등록일자 2021년05월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/74 (2006.01) A61K 48/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/70539 (2013.01)
A61K 48/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-7034341
(22) 출원일자(국제) 2015년06월15일
심사청구일자 2020년06월05일
(85) 번역문제출일자 2016년12월07일
(65) 공개번호 10-2017-0030484
(43) 공개일자 2017년03월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2015/035777
(87) 국제공개번호 WO 2015/195531
국제공개일자 2015년12월23일
(30) 우선권주장
62/013,715 2014년06월18일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W02014083004 A1

(73) 특허권자
앨버트 아인슈타인 컬리지 오브 메디신
미국 뉴욕 10461 브롱크스 모리스 파크 애비뉴
1300
(72) 발명자
사이델 로날드 디. 3세
미국 뉴욕 10538 라치몬트 라치몬트 에이커 726
아파트먼트 씨
차파로 로돌포 제이.
미국 뉴욕 10461 브롱크스 혼 애비뉴 1937
(74) 대리인
특허법인와이에스장

전체 청구항 수 : 총 33 항

심사관 : 김경미

(54) 발명의 명칭 SYNTAC 폴리펩티드 및 이의 용도

(57) 요약

T-세포를 클론적으로 저해 또는 클론적으로 자극하기 위한 조성물 및 방법들이 제공된다.

(52) CPC특허분류

C07K 2319/00 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

C07K 2319/40 (2013.01)

(72) 발명자

힐러리치 브란던 에스.

미국 뉴욕 14850 이타카 윈스톤 코트 606 아파트먼트 5

가포스 스코트 제이.

미국 뉴욕 10464 브롱크스 시티 아일랜드 애비뉴 377

알모 스티븐 씨.

미국 뉴욕 10803 펠햄 제임스 스트리트 850

명세서

청구범위

청구항 1

a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프; 및
- ii) 제1 주요 조직적합성 복합 (MHC) 폴리펩티드

를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b) 제2 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드,

를 포함하는 이종성 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드로서,

제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 또는 제1 및 제2 폴리펩티드는 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하고,

제1 MHC 폴리펩티드는 β 2-미크로글로불린 폴리펩티드이고; 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드이고,

펩티드 에피토프는 암-연합된 에피토프이고,

면역 조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드, ICOS-L 폴리펩티드, OX-40L 폴리펩티드, CD80 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, PD-L1 폴리펩티드, FasL 폴리펩티드, 사이토킨 및 PD-L2 폴리펩티드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 다량체 폴리펩티드.

청구항 2

제1 항에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 면역글로불린 (Ig) Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig 스캐폴드를 포함하는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 3

제1 항에 있어서, 다량체 폴리펩티드는

a1) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프; 및
- ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b1) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드;
- ii) 제2 MHC 폴리펩티드; 및
- iii) 면역글로불린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드; 또는

a2) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프;
- ii) 제1 MHC 폴리펩티드; 및
- iii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b2) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 제2 MHC 폴리펩티드; 및
- ii) Ig Fc 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드; 또는

- a3) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 펩티드 에피토프; 및
 - ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및
- b3) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 제2 MHC 폴리펩티드;
 - ii) Ig Fc 폴리펩티드; 및
 - iii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드; 또는
- a4) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 펩티드 에피토프; 및
 - ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및
- b4) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) a 제2 MHC 폴리펩티드; 및
 - ii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드; 또는
- a5) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 펩티드 에피토프; 및
 - ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및
- b5) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드; 및
 - ii) 제2 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드; 또는
- a6) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 펩티드 에피토프;
 - ii) 제1 MHC 폴리펩티드; 및
 - iii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및
- b6) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로
 - i) 제2 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드

를 포함하고,

이때, 상기 다량체 폴리펩티드 조합 각각에서 제1 폴리펩티드의 개별 성분의 하나 이상은 하나 이상의 링커에 의해 함께 연결되고,

상기 다량체 폴리펩티드조합 각각에서 제2 폴리펩티드의 개별 성분의 하나 이상은 하나 이상의 링커에 의해 함께 연결되는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 4

제1 항에 있어서, 비-Ig 스캐폴드는 XTEN 폴리펩티드, 트란스페린 폴리펩티드, Fc 수용체 폴리펩티드, 엘라스틴-유사 폴리펩티드, 실크-유사 폴리펩티드, 또는 실크-엘라스틴-유사 폴리펩티드인 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 5

제1 항에 있어서, 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드는 사이토킨인 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 6

제1 항에 있어서, 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드 및 CD80 폴리펩티드로부터 선택된 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 7

제1 항에 있어서, 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 8

제7 항에 있어서, 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드는 나란히 있는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 9

제1 항에 있어서, 다량체 폴리펩티드는

a1) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프; 및
- ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b1) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드;
- ii) 제2 MHC 폴리펩티드; 및
- iii) 면역글로불린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드

를 포함하는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 10

제1 항에 있어서, 다량체 폴리펩티드는

a3) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프; 및
- ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b3) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 제2 MHC 폴리펩티드;
- ii) Ig Fc 폴리펩티드; 및
- iii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드

를 포함하는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 11

제1 항에 있어서, 다량체 폴리펩티드는

a4) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 펩티드 에피토프; 및
- ii) 제1 MHC 폴리펩티드를 포함하는 제1 폴리펩티드; 및

b4) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로

- i) 제2 MHC 폴리펩티드; 및

ii) 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 제2 폴리펩티드를 포함하는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 12

제1 항에 있어서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 이황화 결합에 의해 서로 연계된 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 13

제12 항에 있어서, β 2M 폴리펩티드 및 MHC 중쇄 폴리펩티드는 β 2M 폴리펩티드에서 Cys 잔기 및 MHC 중쇄 폴리펩티드에서 Cys 잔기를 연결시키는 이황화 결합에 의해 연결된 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 14

제13 항에 있어서, β 2M 폴리펩티드의 아미노산 잔기 12에서 Cys는 MHC 중쇄 폴리펩티드의 아미노산 잔기 236에서 Cys에 이황화 결합된 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 15

제13 항에 있어서, 제1 폴리펩티드 사슬은 펩티드 에피토프 및 β 2M 폴리펩티드 사이에 링커를 포함하고, 이황화 결합은 링커에 존재하는 Cys를 MHC 중쇄 폴리펩티드의 Cys와 연계시키는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 16

제15 항에 있어서, 제1 폴리펩티드 사슬은 펩티드 에피토프 및 β 2M 폴리펩티드 사이에 링커를 포함하고, 이황화 결합은 링커에서 Gly2에 대해 치환된 Cys를 MHC 중쇄 폴리펩티드의 Tyr84에 대해 치환된 Cys와 연계시키는 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 17

제1 항에 있어서, 면역조정 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드인 것을 특징으로 하는 다량체 폴리펩티드.

청구항 18

제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 다량체 폴리펩티드 중 2개를 포함하는 단백질로서, 2개의 다량체 폴리펩티드 각각은 면역글로불린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함하고, 2개의 다량체 폴리펩티드는 각각의 Ig Fc 폴리펩티드 사이에서 하나 이상의 이황화 결합에 의해 연결되는, 단백질.

청구항 19

제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 또는 제1 및 제2 폴리펩티드를 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산으로서, 제1 또는 제2 폴리펩티드는 최소한 하나의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는, 핵산.

청구항 20

제19 항의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 21

제20 항의 발현 벡터에 의해 유전적으로 변형된 숙주 세포.

청구항 22

암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법으로서, 방법은 시험관 내에서 T 세포를 제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 다량체 폴리펩티드와 접촉시키는 단계를 포함하며, 접촉 단계는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는, 방법.

청구항 23

암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법으로서, 방법은 시험관 내에서 T 세포를 제18 항의 단백질과 접촉시키는 단계를 포함하며, 접촉 단계는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는, 방법.

청구항 24

개체에서 암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법에서 사용을 위한, 제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 다량체 폴리펩티드로, 상기 다량체 폴리펩티드는 개체에서 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하기 위해 투여되는, 다량체 폴리펩티드.

청구항 25

개체에서 암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법에서 사용을 위한, 제18 항의 단백질로, 상기 단백질은 개체에서 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하기 위해 투여되는, 단백질.

청구항 26

개체에서 암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법에서 사용을 위한 제19 항의 핵산으로, 상기 핵산은 개체에서 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하기 위해 투여되는, 핵산.

청구항 27

개체에서 암-연합된 에피토프에 결합하는 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법에서 사용을 위한, 제20 항의 발현 벡터, 상기 발현 벡터는 개체에서 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하기 위해 투여되는, 발현 벡터.

청구항 28

개체에서 암을 치료하는 방법에서 사용을 위한, 제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 다량체 폴리펩티드.

청구항 29

개체에서 암을 치료하는 방법에서 사용을 위한, 제18 항의 단백질.

청구항 30

개체에서 암을 치료하는 방법에서 사용을 위한, 제19 항의 핵산.

청구항 31

개체에서 암을 치료하는 방법에서 사용을 위한, 제20 항의 발현 벡터.

청구항 32

- a) 제1 항 내지 제17 항 중 어느 한 항의 다량체 폴리펩티드, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 암호화 하는 핵산; 및
- b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함하는 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 33

- a) 제18 항의 단백질, 또는 상기 단백질을 암호화하는 핵산; 및
- b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함하는 암 치료용 약학적 조성물.

청구항 34

삭제

- 청구항 35
- 삭제
- 청구항 36
- 삭제
- 청구항 37
- 삭제
- 청구항 38
- 삭제
- 청구항 39
- 삭제
- 청구항 40
- 삭제
- 청구항 41
- 삭제
- 청구항 42
- 삭제
- 청구항 43
- 삭제
- 청구항 44
- 삭제
- 청구항 45
- 삭제
- 청구항 46
- 삭제
- 청구항 47
- 삭제
- 청구항 48
- 삭제
- 청구항 49
- 삭제
- 청구항 50
- 삭제

- 청구항 51
- 삭제
- 청구항 52
- 삭제
- 청구항 53
- 삭제
- 청구항 54
- 삭제
- 청구항 55
- 삭제
- 청구항 56
- 삭제
- 청구항 57
- 삭제
- 청구항 58
- 삭제
- 청구항 59
- 삭제
- 청구항 60
- 삭제
- 청구항 61
- 삭제
- 청구항 62
- 삭제
- 청구항 63
- 삭제
- 청구항 64
- 삭제
- 청구항 65
- 삭제
- 청구항 66
- 삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 교차 참고자료

[0002] 본 출원은 2014년 6월 18일자로 제출된 미국 가출원 번호 62/013,715에 혜택을 주장하며, 이의 전문이 본 명세서의 참고자료에 편입된다.

[0003] 정부 지원 공시

[0004] 본 발명은 NIGMS, National Institutes of Health에서 부여한 허가 번호 3U54GM094662-02 및 5U01GM094665-02에 따라 정부 지원하게 이루어진 것이다. 정부는 본 발명의 특정 권리를 보유한다.

[0005] 문서 화일로 제공된 서열 목록의 편입

- [0006] 서열 목록은 2015년 6월 10일자로 만들어진 크기가 142 KB인, " IMGN-E003WO_ST25.txt " 의 문서 파일로 편입된다. 본 명세서에서 참고 파일로 편입된다:
- [0007] **개요**
- [0008] 본 출원을 통하여 [] 안에 다양한 공고물들이 언급된다. 이들 참고자료의 모든 언급은 명세서의 끝에서 볼 수 있을 것이다. 본 명세서에서 언급된 이들 공개문의 내용, 그리고 모든 특허, 특허 출원 공고 및 책들은 본 발명이 속하는 해당 기술이 더욱 충분히 설명되도록 본 출원에 이들 전문이 통합된다.
- [0009] 임상적으로 관련된 생물표지 발견을 위한 기술을 통하여 높은 처리량 기술의 개발에 있어서 지난 10년간에 걸쳐 급속한 발전은 단계별 발전 및 생물학적 원천으로부터 생산된 또는 추출된 생물체제, 약물(가령, 단클론 항체, 치료요법적 단백질, 및 펩티드)과 병행되어 왔으며, 그리고 면역-기원의 상태를 치료가 혁신되어 왔었다. 그러나, 현재 생물체 요법은 이들의 합성 대응부의 속도를 배가 (생물체의 경우 17%, 합성체의 경우 8.5%)함에 있어서 안전한 조절 작용을 촉진시킨다 [1]. 이는 이들 면역-조절하는 생물체의 작용 방식으로부터 드러나는 것으로 보인다: 자가면역의 경우에 포괄적 면역억제 (가령, Humira [2]) 및 암의 치료를 위한 포괄적 면역자극 (가령, Yervoy [3]). 이들 치료는 병원성 관련 세포에 면역조절을 적절하게 제한하지 않고, 그 결과로 환자들에게서 치명적으로 감염 및 다수의 힘든 부작용을 만드는 경향이 있다 [4-6]. 더욱이, 이들 약물의 중간정도의 효과 및 안전한 프로파일[7]은 표적화된 치료요법에 대한 최근 경향을 유도하였다. 제1세대 " 표적화된 " 생물체들은 더욱 제한된 T 세포 하위집단에 이들의 효과를 지시한다 (가령, 항체 및 단백질 치료요법제, 가령 항-4-1BB, 항-CD27, LAG-3, 및 TIM-3) [8-11]. 그러나, 기존 요법과 유사하게, 이들 " 제1세대(1st-gen) " 노력은 오직 질환-관련된 세포들만을 표적하지 못하는 상태로 남아있다.
- [0010] 적응 면역 반응이 포함된 분자 사건의 중심에 T 세포 수용체 (TCR)는 비-공유적으로 주요 조직적합성 복합 (MHC) 분자에 의해 제공되는 작은 펩티드 항원과 관련성이 있다. 이것은 면역 시스템의 표적화 기전을 나타내며, T 세포 활성화 및 작동체 기능에 대한 필수 분자 상호작용이다. 에피토프-특이적 세포 표적화 후, 모집된 T 세포들은 항원 제공 세포에서 발견되는 상호자극 분자들의 전반적인 관여를 통하여 활성화된다. 이들 신호는 T 세포 특이성 및 활성화 또는 저해를 구동하는데 요구된다. 중요하게, T 세포 발달 동안 게놈 편집 (genomic editing) 과정은 모든 T 세포에서 독특한 TCR의 발현을 초래하고[12], 반면 상호자극 분자는 모든 T 세포 (또는 거대 T 세포 ' 하위집단 ')에서 일반적으로 발현된다. 현재 접근법들은 거의 배타적으로 상호자극적 분자의 전적인 관여에 의존하여, " 포괄적 요법 " 을 얻게된다. 이들 포괄적 면역요법은 믿을 수 있을 정도로 강력하지만, 그러나 무분별한 T 세포의 표적화는 상당한 독성을 유도한다. 상호자극적 분자들이 질환-관련된 TCRs을 보유하는 T 세포에 선호적으로 결합할 수 있다면, 이들의 효능은 골칫거리에서 장점으로 진전할 수 있다.
- [0011] T 세포 조절을 위한 다수의 방법들이 존재하는데, 여기에는 상호자극적 기능을 차단시킬 수 있는 상호자극적 분자를 향하는 Fc 융합 또는 항체로 일반적으로 발현되는 가용성 상호자극 분자 [13, 14], 항체-약물 공액체 (ADCs) [15], 이중-특이적 항체 (BsAbs) [16, 17] 및 자유 펩티드 항원 [18]의 이용을 포함한다. 특히, ADCs (흔히 마법의 탄환(magic bullet)으로 불림)는 병적 세포에 직접적으로 독소 (또는 다른 약물 페이로드)의 표적화된 운반을 약속한다. 그러나 ADCs는 현재 항체 표적화를 위한 바람직한 생물표지의 부족 및 열악한 내화가 문제가 되는데, 그 이유는 투여분량의 단지 ~1.5%만이 종양 세포 안에서 발견되며, 내화는 대개 세포 사멸에 요구된다. 이중특이적 항체는 다중 mAbs의 부가적 그리고 공조적 효과를 복합시키는 매력적인 기회를 제공하고, 종양 세포를 T 세포에 연결시키는데 이용될 수 있으며 [17], 그리고 따라서 반응을 유도하기 위한 내화를 요구하지 않는다. 이중특이적 항체는 상이한 2개의 항원과 이가(bivalent) 상호작용을 가지도록 개발되었지만 [19], 이들 구조체는 부계 mAb와 비교하여 여전히 모듈성(modularity)이 부족하며, 친화력의 감소에 시달린다[20]. 적응성 T 세포 (CAR-T) 요법은 이들 문제를 부분적으로 해결하고, 상기에서 설명된 전통적 요법에 대한 매력적인 대안이 된다[21]. CAR-T는 이들의 표면 상에 키메라 항원 수용체 (CARs)를 보유하는 유전적으로 변형된 일차 T 세포를 이용한다: 환자의 T 세포가 추출되고, 정제되고, 그리고 CARs의 이용을 통하여 종양 특이적 항원에 대하여 유전적으로 변형된다. CAR은 병적 세포를 표적으로 하지만, 전통적인 상호자극적 분자 세포질 도메인을 담고 있는 외부 단일 체 가변 도메인 (항체 단편)을 갖는다. 일단 조작된 T 세포는 표적 항원에 결합하면, 내부 자극 도메인은 T 세포가 충분히 활성화되도록 필요한 신호를 제공한다. 이와 같은 충분한 활성 상태에서, 상기 T 세포는 암 세포를 더 효과적으로 증식 및 공격할 수 있다. 확장성 문제(가령, T-세포 추출 및 변형과 연합된 상당한 비용 및 곤란성)와 함께, 사이토킨 방출 증후군 및 연합된 부작용을 회피하기 위하여 이 반응의 완화는 이 기술이 주류 용도로 진입되는 것을 방지한다[22].

- [0012] 바이오생약으로도 또한 알려진 생물체는 생물학적 원천에 의해 생산되거나 또는 이로부터 추출된 약물이다(" 작은-분자 " 약물과 대조적으로). 생물체는 포괄적 치료제 시장에 상대적으로 최근 추가된 것으로, 유전 공학을 통하여 만들어진 대부분 재조합 단백질이다; 이들은 단클론 항체, 치료요법적 단백질, 및 펩티드를 포함한다. 현재 시판되는 생물학적 약물의 대부분은 만성 질환들, 이를 테면 암, 당뇨병, 심혈관 질환들, 불임 및 남성 성 유증을 앓고 있는 환자를 완화시키는데 이용된다. 포괄적 생물체 시장은 2012년 \$163달러로 평가되며, 2017년까지 \$2520억 달러에 이를 것으로 기대되며, 이는 연 평균 9%의 복합 성장률을 뒷받침한다. 이러한 성장의 구동은 좀더 고가의 약물 경로, 도전적 질환들에 대한 매력적인 표적의 확인, 그리고 단축화된 FDA 승인 경로의 최근 도입에 의해 구체화된 후속 생물체 (동등생물약, 복제 생물약)를 추적하기 위한 추진이 필요하다.
- [0013] 본 발명은 시장에서 또는 개발중인 포괄적 그리고 " 허위-표적화된 " 조절물질에 반대하여, 상향조절(가령, 암의 경우) 또는 억제(가령, 자가면역의 경우)를 위하여 임상적으로 오직 질환-관련된 T 세포만을 표적으로 하는 면역-중양학 및 자가면역-맞춤 치료요법의 요구를 해결한다.
- [0014] **요약**
- [0015] 본 발명은 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여(contiguous with) 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산 링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0016] 본 발명은 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산 링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드를 또한 제공한다.
- [0017] 에피토프 펩티드를 인지하는 T 세포 클론을 저해하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 재조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 저해시키는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0018] 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 저해함으로써 자가면역 장애를 치료하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 재조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 자가면역 장애를 치료하는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0019] 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시키는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 재조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 자극하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0020] 암에 있는 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시킴으로써 암을 치료하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 재조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 암을 치료하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0021] (i) 제1 아미노산 링커 서열에 결합된 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 서열이 포함된 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드와 (ii) MHC 중쇄의 서열을 갖는 아미노산 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드 구조체가 또한 제공되며, 이때 (i)은 하나, 또는 하나 이상의 이항화결합에 의해 (ii)에 결합된다.
- [0022] (i) 제1 아미노산 링커 서열에 결합된 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 서열이 포함된 아미노산 서열 그리고 (ii) T 세포 조정 도메인 펩티드, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 MHC 중쇄의 서열을 갖는 아미노산 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드 구조체가 또한 제공되는데, 이때 (i)은 하나, 또는

하나 이상의 이황화결합에 의해 (ii)에 결합된다.

- [0023] 각각 이의 면역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 제조조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질이 또한 제공된다.
- [0024] 각각 이의 면역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 제조조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질이 또한 제공된다.
- [0025] 본 발명은 본 명세서에서 설명된 바와 같이, 5'에서 3'의 순서로 제조조합 폴리펩티드가 인코딩된 서열이 포함된 이종(heterologous) 핵산에 의해 형질도입된 또는 형질감염된 단리된 현탁액-적용된 세포를 제공한다.
- [0026] 본 명세서는 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산 링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 제조조합 폴리펩티드를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 후보 에피토프는 7-20개의 아미노산을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제3 아미노산 링커는 자가-절단(self-cleaving)성이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제2 아미노산 링커는 자가-절단성이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 자가-절단 펩티드는 바이러스 2A 펩티드 이거나 또는 이의 서열을 갖는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 B2M 리더 서열은 인간 B2M 리더 서열의 서열을 갖는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 B2M 리더 서열은 인간 B2M 리더 서열의 서열을 갖는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 인간 MHC 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 MHC I 분자다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 HLA-A02:01이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 MHC II 분자다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgA Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgM Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 인간 면역글로블린 Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG1 Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제조조합 폴리펩티드는 His-8 태그(tag), 연속하여 이의 C-말단을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 저해 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 자극 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 항체, 및 항체 단편, 펩티드 리간드, T 세포 상호자극적 펩티드, 사이토킨 또는 독소다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 PD-L1 펩티드, PD-L1 펩티드의 Ig 가변 도메인을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 4-1BBL을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 B7-1W88A를 포함하며, 또는 상기 T 세포 조정 도메인은 항-CD28 단일 체 Fv를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제조조합 폴리펩티드는 B2M 펩티드 서열과 중쇄 서열 사이에 이황화 결합에 영향을 주기 위하여, 인간 고유의 B2M 펩티드 및 이의 중쇄 서열 안에 돌연변이를 포함한다.
- [0027] 본 명세서는 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산 링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 제조조합 폴리펩티드를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 후보 에피토프는 7-20개의 아미노산을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제3 아미노산 링커는 자가-절단(self-cleaving)성이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제2 아미노산 링커는 자가-절단성이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 자가-절단 펩티드는 바이러스 2A 펩티드 이거나 또는 이의 서열을 갖는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 B2M 리더 서열은 인간 B2M 리더 서열의 서열을 갖는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 인간 MHC 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 MHC I 분자다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 HLA-A02:01이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 중쇄는 MHC II 분자다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgA Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgM Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 인간 면역글로블린 Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG1 Fc 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제조조합 폴리펩티드는 His-8 태그(tag), 연속하여 이의 C-말단을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 저해 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 자극 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 항체, 및 항체 단편, 펩티드 리간드, T 세포 상호자극적 펩티드, 사이토킨 또는 독소다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 PD-L1 펩티드, PD-L1 펩티드의 Ig 가변 도메인을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 4-1BBL을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 B7-1W88A를 포함하며, 또는 상기 T 세포 조정 도메인은 항-CD28 단일 체 Fv를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상

기 재조합 폴리펩티드는 B2M 펩티드 서열과 중쇄 서열 사이에 이황화 결합에 영향을 주기 위하여, 인간 고유의 B2M 펩티드 및 이의 중쇄 서열 안에 돌연변이를 포함한다.

- [0028] 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 폴리펩티드는 B2M 펩티드 서열과 중쇄 서열 사이에 이황화 결합을 만들기 위하여, 인간 고유의 B2M 펩티드 및 이의 중쇄 서열 안에 돌연변이를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 중쇄 서열은 HLA이며, 이때 상기 이황화 결합은 다음의 잔기 쌍중 하나를 연결한다: B2M 잔기 12, HLA 잔기 236; B2M 잔기 12, HLA 잔기 237; B2M 잔기 8, HLA 잔기 234; B2M 잔기 10, HLA 잔기 235; B2M 잔기 24, HLA 잔기 236; B2M 잔기 28, HLA 잔기 232; B2M 잔기 98, HLA 잔기 192; B2M 잔기 99, HLA 잔기 234; B2M 잔기 3, HLA 잔기 120; B2M 잔기 31, HLA 잔기 96; B2M 잔기 53, HLA 잔기 35; B2M 잔기 60, HLA 잔기 96; B2M 잔기 60, HLA 잔기 122; B2M 잔기 63, HLA 잔기 27; B2M 잔기 Arg3, HLA 잔기 Gly120; B2M 잔기 His31, HLA 잔기 Gln96; B2M 잔기 Asp53, HLA 잔기 Arg35; B2M 잔기 Trp60, HLA 잔기 Gln96; B2M 잔기 Trp60, HLA 잔기 Asp122; B2M 잔기 Tyr63, HLA 잔기 Tyr27; B2M 잔기 Lys6, HLA 잔기 Glu232; B2M 잔기 Gln8, HLA 잔기 Arg234; B2M 잔기 Tyr10, HLA 잔기 Pro235; B2M 잔기 Ser11, HLA 잔기 Gln242; B2M 잔기 Asn24, HLA 잔기 Ala236; B2M 잔기 Ser28, HLA 잔기 Glu232; B2M 잔기 Asp98, HLA 잔기 His192; 및 B2M 잔기 Met99, HLA 잔기 Arg234.
- [0029] 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 폴리펩티드는 B2M 펩티드 서열과 중쇄 서열 사이에 이황화 결합에 영향을 주기 위하여, 인간 고유의 B2M 펩티드 및 이의 중쇄 서열 안에 돌연변이를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 중쇄 서열은 HLA이며, 이때 상기 이황화 결합은 다음의 잔기쌍중 하나를 연결한다: 제1 링커 위치 Gly 2, 중쇄 (HLA) 위치 Tyr 84; 경쇄 (B2M) 위치 Arg 12, HLA Ala236; 및/또는 B2M 잔기 Arg12, HLA 잔기 Gly237.
- [0030] 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 저해 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 자극 도메인이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 항체, 및 항체 단편, 펩티드 리간드, T 세포 상호자극적 펩티드, 사이토킨 또는 독소다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T 세포 조정 도메인은 PD-L1 펩티드, PD-L1 펩티드의 Ig 가변 도메인을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 4-1BBL을 포함하며, 상기 T 세포 조정 도메인은 B7- 1W88A을 포함하며, 또는 상기 T 세포 조정 도메인은 항-CD28 단일쇄 Fv를 포함한다.
- [0031] 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 폴리펩티드중 임의의 것이 인코드된 핵산을 제공한다. 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 폴리펩티드중 임의의 것이 인코드된 핵산으로 형질변환된 세포를 제공한다.
- [0032] 본 명세서는 에피토프 펩티드를 인지하는 T 세포 클론을 저해하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 클론의 T 세포에 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 펩티드를 접촉시키는 것을 포함하는데, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 저해시키는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0033] 본 명세서는 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 저해함으로써, 자가면역 장애를 치료하는 방법을 제공하는데, 이 방법은 클론의 T 세포에 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 펩티드를 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 자가면역 장애를 치료하는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0034] 본 명세서는 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시키는 방법을 제공하는데, 이 방법은 클론의 T 세포에 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 펩티드를 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 자극하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0035] 본 명세서는 암에 있는 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시킴으로써 암을 치료하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 재조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 암을 치료하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.
- [0036] 본 명세서는 (i) 제1 아미노산 링커 서열에 결합된 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 서열이 포함된 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드와 (ii) MHC 중쇄의 서열을 갖는 아미노산 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드 구조체를 제공하며, 이때 (i)은 하나, 또는 하나 이상의 이황화결합에 의해 (ii)에 결합된다. 본 명세서는 각각 이의 면역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또

는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 재조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질을 제공한다.

[0037] 본 명세서는 (i) 제1 아미노산 링커 서열에 결합된 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 서열을 포함하는 아미노산 서열, 그리고 (ii) T 세포 조정 도메인 펩티드, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 MHC 중쇄의 서열을 갖는 아미노산 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드 구조체를 제공하며, 이때 (i)은 하나, 또는 하나 이상의 이황화결합에 의해 (ii)에 결합된다. 본 명세서는 각각 이의 면역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 재조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질을 제공한다.

[0038] 본 명세서는 최소한 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드가 포함된 다량체 폴리펩티드를 제공하며, 여기에서 상기 제1 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 및 ii) 제1 주요 조직적합성 복합 (MHC) 폴리펩티드를 포함하고; 그리고 여기에서 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 및 ii) 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단 또는 상기 제2 폴리펩티드의 N-말단에 면역조정 도메인을 포함한다. 본 명세서는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공한다. 본 명세서는 상기 핵산들을 포함하는 재조합 발현 벡터들을 제공한다. 본 명세서는 유전적으로 변형된 숙주 세포를 제공하는데, 여기에서 상기 유전적으로 변형된 숙주 세포는 본 명세서의 핵산 또는 본 명세서의 재조합 발현에 의해 유전적으로 변형된다. 본 명세서는 상기 다량체 폴리펩티드가 포함된 약학 조성물이 포함된, 조성물을 제공한다. 본 명세서는 조절하는 T 세포의 활성을 조절하는 방법들을 제공하는데, 상기 방법들은 상기 T 세포에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 접촉시키는 것과 관련된다. 본 명세서는 이를 요하는 개인에게 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량을 투여하는 것과 관련된 치료 방법들을 제공한다. 본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 포함된 용기, 또는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 포함된 조성물 (가령, 약학 조성물)을 제공한다.

[0039] 본 명세서는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 면역조정 도메인; iii) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드를 제공한다. 본 명세서는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 iii) 면역조정 도메인이 포함된 제1 폴리펩티드 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 면역글로블린(Ig) Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드는 서열 번호:4에 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C, 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 서열 번호:5에서 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 알파쇄 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 베타쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 T-세포 에피토프다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드, IgG2 Fc 폴리펩티드, IgG3 Fc 폴리펩티드, IgG4 Fc 폴리펩티드, IgA Fc 폴리펩티드, 또는 IgM Fc 폴리펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 도 24a-24c에 나타낸 아미노산 서열에 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드 그리고 상기 제2 폴리펩티드는 비-공유적으로 연합된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드 그리고 상기 제2 폴리펩티드는 공유적으로 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 공유 연계(linkage)는 이황화 결합을 경유한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드 또는 상기 에피토프와 상기 제1 MHC 폴리펩티드 사이의 링커는 제1 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 제2 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며, 그리고 이때 상기 이황화 연계는 상기 제1 및 제2 Cys 잔기 사이에 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프와 제1 MHC 폴리펩티드 사이에 끼어있는 제 1 링커를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드, B7-1 폴리펩티드; B7-2 폴리펩티드, ICOS-L 폴리펩티드, OX-40L 폴리펩티드, CD80 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, PD-L1 폴리펩티드, FasL 폴리펩티드, 및 PD-L2 폴리펩티드로부터 선택된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드 또는 상기 제2 폴리펩티드는 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를

포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드는 나란히 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 제3 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드에 대하여 최소한 90% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열이 포함된 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드에 공유적으로 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 이때 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 상기 제2 MHC 폴리펩티드; ii) 상기 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드; 그리고 iii) 친화력 태그(tag)를 포함한다.

[0040]

본 명세서는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 선택적으로 Ig Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig 스캐폴드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드를 제공하며, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 선택적으로 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig 스캐폴드를 포함하며, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상 면역조정 도메인을 포함하며, 이때 상기 하나 또는 그 이상 면역조정 도메인은 A) 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단; B) 상기 제2 폴리펩티드의 N-말단; C) 상기 제2 폴리펩티드의 C-말단; 또는 D) 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단 그리고 상기 제2 폴리펩티드의 N-말단에 있다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 단일 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 2개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 2개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 3개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 3개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 4개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 4개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 단일 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 2개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 2개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 3개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 3개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 4개의 면역조정 폴리펩티드 (가령, 동일한 면역조정 폴리펩티드의 4개 복사체)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 iii) 면역조정 도메인이 포함된 제1 폴리펩티드 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 면역조정 도메인; iii) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 면역조정 도메인이 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 면역조정 도메인이 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 비-Ig 스캐폴드는 XTEN 폴리펩티드, 트랜스페린 폴리펩티드, Fc 수용체 폴리펩티드, 엘라스틴-유사 폴리펩티드, 실크-유사 폴리펩티드, 또는 실크-엘라스틴-유사 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드는 서열 번호:4에 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 서열 번호:5에서 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 알파 쇠 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 베타 쇠 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 T-세포 에피토프다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 Fc 폴리펩티드를 포함하며, 이때

상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드, IgG2 Fc 폴리펩티드, IgG3 Fc 폴리펩티드, IgG4 Fc 폴리펩티드, IgA Fc 폴리펩티드, 또는 IgM Fc 폴리펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 도 24a-24c에 나타난 아미노산 서열에 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 또는 최소한 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드 그리고 상기 제2 폴리펩티드는 비-공유적으로 연합된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드 그리고 상기 제2 폴리펩티드는 공유적으로 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 공유 연계(linkage)는 이황화 결합을 경유한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드 또는 상기 에피토프와 상기 제1 MHC 폴리펩티드 사이의 링커는 제1 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 제2 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며, 그리고 이때 상기 이황화 연계는 상기 제1 및 제2 Cys 잔기 사이에 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프와 제1 MHC 폴리펩티드 사이에 끼어있는 제 1 링커를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드, B7-1 폴리펩티드; B7-2 폴리펩티드, ICOS-L 폴리펩티드, OX-40L 폴리펩티드, CD80 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, PD-L1 폴리펩티드, FasL 폴리펩티드, 및 PD-L2 폴리펩티드로부터 선택된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드는 나란히 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 제3 폴리펩티드를 포함하며, 이때 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드 또는 제2 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드에 대하여 최소한 90% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열이 포함된 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 폴리펩티드에 공유적으로 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 상기 제2 MHC 폴리펩티드; ii) 상기 Ig Fc 폴리펩티드; 그리고 iii) 친화력 태그(tag)를 포함한다.

[0041]

본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 폴리펩티드 쇠들을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열들이 포함된 핵산을 제공하며; 일부 경우들에 있어서, 상기 핵산은 재조합 발현 벡터 안에 존재한다. 본 명세서는 재조합 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공하는데, i) 이때 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프; b) 제1 MHC 폴리펩티드; c) 면역조정 폴리펩티드; d) 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커 또는 리보솜 스킵핑(skipping) 신호; e) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 f) 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig-기반의 스캐폴드를 포함하며; 또는 ii) 이때 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프; b) 제1 MHC 폴리펩티드; c) 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커 또는 리보솜 스킵핑 신호; d) 면역조정 폴리펩티드; e) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 f) Ig Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig-기반의 스캐폴드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드는 서열 번호:4에 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 HLA-A, HLA-B, 또는 HLA-C 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 서열 번호:5에서 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 알파 쇠 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 베타 쇠 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 T-세포 에피토프다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드, IgG2 Fc 폴리펩티드, IgG3 Fc 폴리펩티드, IgG4 Fc 폴리펩티드, IgA Fc 폴리펩티드, 또는 IgM Fc 폴리펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 도 24a-24c에 나타난 아미노산 서열에 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드, B7-1 폴리펩티드; B7-2 폴리펩티드, ICOS-L 폴리펩티드, OX-40L 폴리펩티드, CD80 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, PD-L1 폴리펩티드, FasL 폴리펩티드, 및 PD-L2 폴리펩티드로부터 선택된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, 림프독소 베타 수용체, 3/TR6, ILT3, ILT4, 및 HVEM으로부터 선택된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커 또는 리보솜 스킵핑 신호는 a) LEVLFQGP (서열 번호:37); b) ENLYTQS (서열 번호:34); c) 퓨린 절단 부위; d) LVPR (서열 번호:36); e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64); f) GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호:65); g) GSGQCNTYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:66); 그리고 h) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:67)로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 제1 리더 펩티드; b) 상기 에피토프; c) 상기 제1 MHC 폴리펩티드; d) 상기 면역조정 폴리펩티드; e) 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커 또는 리보솜 스킵핑 신호; f) 제2 리더 펩티드; g) 상기 제2 MHC 폴

리펩티드; 그리고 h) 상기 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 리더 펩티드 그리고 상기 제2 리더 펩티드는 β 2-M 리더 펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은 전사조절 요소에 작동가능하도록 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 전사 조절 요소는 진핵 세포에서 기능을 하는 프로모터다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드 또는 상기 에피토프와 상기 제1 MHC 폴리펩티드 사이의 링커는 제1 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 제2 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하며 이때 상기 제1 및 제2 Cys 잔기들은 상기 제1 MHC 폴리펩티드 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드 사이의 이황화 연계를 위하여 제공된다. 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 핵산들중 임의의 것을 포함하는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 발현 벡터는 바이러스 벡터다. 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 발현 벡터는 비-바이러스 벡터다. 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 발현 벡터에 의해 유전적으로 변형된 숙주 세포를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 숙주 세포는 시험관에 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 숙주 세포는 유전적으로 변형되어, 상기 세포는 내생성 MHC β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드를 만들지 않는다. 일부 경우들에 있어서, 상기 숙주 세포는 T 림프구다.

[0042] 본 명세서는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; ii) 제1 MHC 폴리펩티드; 그리고 iii) 면역조정 도메인이 포함된 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 제1 핵산; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig-기반의 스캐폴드가 포함된 제2 폴리펩티드가 인코딩된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제2 핵산을 포함하는 조성물을 제공한다. 본 명세서는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제1 핵산; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 면역조정 도메인 ii) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제2 핵산을 포함하는 조성물을 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 및/또는 제2 핵산은 재조합 발현 벡터 안에 존재한다. 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 핵산 조성물로 유전적으로 변형된 숙주 세포를 제공한다.

[0043] 본 명세서는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 다량체 폴리펩티드를 만드는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 다음을 포함한다: a) 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 숙주 세포를 상기 숙주 세포가 상기 다량체 폴리펩티드를 합성하는 조건하에서 배양 배지에서 시험관내 배양시키고; 그리고 b) 상기 숙주 세포 및/또는 배양 배지로부터 상기 다량체 폴리펩티드를 단리한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제2 폴리펩티드는 친화력 태그(tag)를 포함하는데, 이때 전술한 단리는 상기 세포에 의해 생산된 다량체 폴리펩티드에 친화력 태그(tag)용 결합 짝을 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 결합 짝은 고정되며, 이로 인하여 상기 다량체 폴리펩티드는 고정된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 방법은 상기 고정된 다량체 폴리펩티드의 용리 (eluting)를 포함한다.

[0044] 본 명세서는 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 T 세포에 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 다량체 폴리펩티드를 접촉시키는 것을 포함하고, 이때 전술한 접촉에 의해 선택적으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 활성이 조절된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드이며, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포를 활성화시킨다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 저해 폴리펩티드이며, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포를 저해시킨다. 일부 경우들에 있어서, 상기 접촉은 시험관내에서 실행된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 접촉은 생체내에서 실행된다.

[0045] 본 명세서는 개체에서 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 개체내에서 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는데 효과적인 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 다량체 폴리펩티드의 효과량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드이며, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포를 활성화시킨다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 암-연합된 에피토프이며, 그리고 이때 전술한 투여로 상기 암-연합된 에피토프에 특이적인 T 세포 특이적의 활성은 선택적으로 증가된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 저해 폴리펩티드이며, 그리고 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 저해한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 자가-에피토프, 그리고 이때 전술한 투여로 상기 자가-에피토프에 특이적인 T 세포 활성이 선택적으로 저해된다.

[0046] 본 명세서는 개체에서 감염을 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에게 a) 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 다량체 폴리펩티드; 또는 b) 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티

드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상 재조합 발현 벡터들; 또는 c) 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상 mRNAs의 효과량을 투여하는 것을 포함하며, 이때 상기 에피토프는 병원체-연합된 에피토프이며, 이때 상기 면역조정 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드이며, 그리고 이때 전술한 투여는 개체에서 병원체-연합된 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는데 효과적이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 병원체는 바이러스, 세균, 또는 원생동물이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 투여는 피하 투여이다 (가령, 상기 투여는 피하 투여를 통하여 실시된다). 일부 경우들에 있어서, 상기 투여는 정맥내 투여이다 (가령, 상기 투여는 정맥내 투여를 통하여 실시된다). 일부 경우들에 있어서, 상기 투여는 근육내 투여이다 (가령, 상기 투여는 근육내 투여를 통하여 실시된다). 일부 경우들에 있어서, 상기 투여는 전신투여다. 일부 경우들에 있어서, 상기 투여는 치료 부위로부터 먼곳에서의 투여다. (가령, 상기 투여는 피하 투여를 통하여 실시된다). 상기 투여는 국소적이다 (가령, 상기 투여는 피하 투여를 통하여 실시된다). 상기 투여는 치료 부위에서 또는 그 부근에서 투여된다.

[0047] 본 명세서는 a) 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 다량체 폴리펩티드; 그리고 b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0048] 본 명세서는 a) 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 핵산, 또는 상기에서 설명된, 또는 본 명세서의 도처에서 설명된 재조합 발현 벡터; 그리고 b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함하는 조성물을 제공한다.

도면의 간단한 설명

[0049] 도 1: SynTac: T 세포 활성화를 위한 인공 면역학적 시냅스. 좌측 패널은 T 세포 활성화를 위한 전통적인 두개-신호 가설을 설명한다. 즉, 상기 T 세포와 항원 제공 세포 (APC) 사이의 독특한 TCR:MHC-에피토프를 통한 표적화된 T 세포 연계, 상호자극적 분자 연계를 통한 자극 또는 저해. 중간 패널은 synTac (우측)를 위한 작용 방식에 의해 이어지는 synTac 분자를 도면으로 나타낸 것이다. 자연적 반응 (좌측)에 유사하게, synTac 용합 단백질은 상기 MHC-에피토프를 통하여 매우 특이적 세포 표적화를 허용한다. 이 다음은 상호자극적 분자 연계를 통하여 작용하는 T 세포 조정 도메인 ("MOD")이며, 그리고 활성화 또는 저해를 위하여 제공될 수 있다. 이는 포괄적이지는 아니지만, 클론 T 세포 반응을 유도한다. 특히, MOD는 임의의 공지된 또는 승인된 항체, 항체 단편, 상호자극적 분자이거나, 또는 다른 문헌에서 증명된 페이로드 (사이토킨, 독소, 등) 뿐만 아니라 새로운 합류물질(entrants)이 될 수 있다.

도 2a-2c: synTac Fc-용합 구축. 한 가지 전략은 연합된 산물의 원자가(valency), 안정성 및 치료요법적 창을 증가시키기 위하여 Fc-용합 구축을 이용한다. 간략하게 설명하자면, 상기 Fc 영역은 2개의 동일한 면역글로블린 CH2-CH3 도메인 (Fc로 명명된)의 상호작용을 통하여 형성되고, 2개의 가는 선으로 설명된 바와 같이, CH2 도메인들 사이에 2개의 이황화결합을 통하여 안정화된 고유의 공유적 동중-이량체다. 도 2a는 IgG Fc 영역에 이의 카르복시 말단이 연계된 단일쇄 펩티드 MHC 단백질을 나타낸다. 대안적 단백질 연계 (이를 테면 MOD)를 도입시키기 위하여, 상기 구조체는 각각 중쇄 및 경쇄로 분열시켜, 다목적용 펩티드 및 단백질을 용합한다. 하나의 구조, 도 2b는 경쇄 (베타 2 마이크로글로블린, B2M)에 상기 펩티드의 아미노-말단이 연합되고, 이어서 MOD 작동체 분자에 상기 경쇄의 카르복시 말단 연장된다. 이 시나리오에서, 상기 중쇄 (HLA-분자, HC)는 상기 Fc 영역에 용합된다. 구조체들은 이황화 다리를 통하여 함께 공유적으로 유지된다 (S-S로 라벨됨). 대안적 방향, 도 2c는 Fc 용합된 중쇄의 MOD 아미노 말단은 B2M 경쇄에 여전히 연계된 펩티드를 둔다.

도 3a-3b: 상기 2개의 기저 synTac 분자에 대한 전반적인 도안. 이 구조체는 효과적인 배출 및 ER 프로세싱 직후 후보 에피토프 (펩티드(PEPTIDE)로 라벨됨)를 허용하기 위하여, 고유의 인간 B2M 리더 서열 (리더(LEADER))을 이용한다. 경쇄 연계 (LC, 도 3a)의 경우, 이는 링커 L1을 통하여 고유의 B2M 분자와 링커 L2를 통하여 MOD를 통하여 연결된다. 이 전체 카세트는 각 쇠의 화학량론적 발현을 허용하기 위하여, 바이러스 돼지 테스초바이러스-1 (P2A) "자가-절단" 펩티드에 의해 또다른 B2M 리더 서열, MHC 중쇄 및 IgG1 Fc 도메인에 연계된다. 상기 중쇄 (HC, 도 3b) 연계는 유사하나, 그러나 상기 바이러스 P2A 펩티드는 B2M에 어어지며, 상기 MOD는 상기 제2 리더 펩티드에 이어진다. 두 구조체는 8x His 태그(tag)에서 종료된다.

도 4: CRISPR/CAS는 내생성 베타-2-마이크로글로블린의 녹-아웃(Knock-out)을 중재하였다. 가이드(Guide) RNA는 CRISPR/CAS를 인코딩하는 플라스미드와 함께 형질감염된 내생성 B2M에 대항하여 기획되었으며, 3일간 배양되도록 허용되었다. 배양된 세포는 B2M에 대하여 표면 착색되었으며, 형광 활성화된 세포 소팅 (FACS)에 의해 카운터 선택된다(형광 상실에 의해 분류되었다). 분류된 세포는 회수되었고, 효과적인 녹-아웃을 보장하기 위하여, 2회 이상의 착색, 카운터-소팅 및 회수(총 3회)를 받았다. 최종 풀(pool)은 상기에서 나타낸 것과 같

이, FACS를 통하여 B2M 표면 발현을 모니터함으로써 정성적으로 점검되었다.

도 5a-5b: 조작된 이항화 결합을 갖는 synTac 구조체의 생산 및 활성 테스트 한 구조체 (H236-L12, synTac 18로 라벨됨)의 경우 높은 수준이 발현이 설명되었고, 제2 구조체(H237-L12, synTac 17)의 경우 중간 수준의 발현이 설명되었다. dt-SCT 이항화 도식은 양성 조절 (synTac 2로 라벨됨)로 이용된다. 비-환원 PAGE는 고분자량 분자, 이항화 연계된 모이어티는 예상된 바와 같이 형성되었다는 것을 제시하였다 (도 5a). 모든 발현 구조체들은 100 ml 규모로 확대될 수 있고, 정제되고, 그리고 HEK 세포의 표면에 발현된 동족(cognate) TCR (A6로 명명된)의 결합을 통하여 활성이 테스트되며, FACS 형광에 의해 모니터될 때, 적절한 폴딩 및 활성이 제시된다 (도 5b). 비-동족 TCR을 발현시키는 세포 (AS01로 명명된)는 음성 대조로 이용되었다.

도 6a-6b: 다양한 synTac 단백질 용합물들의 발현. 다양한 표적화 펩티드 및 PD-L1 MOD 도메인을 가진 HLA 이소타입(isotypes)과, 구체적으로 1) HTLV-인간-HLA-A02, 2) IGRP-뮤린 H2-Kd 그리고 3) TUM-뮤린 H2-Kd의 경쇄 연계된 synTac 용합물(도 6a), 다양한 MOD 도메인들을 보유하는 IGRP 기반의 synTac 용합, 4) PD-L1의 Ig 가변 도메인, 5) 4-1BBL, 6) 항-CD28 단일 쇠 Fv, 및 7) B7-1W88A을 갖는 IGRP 기반의 synTac 용합물 (도 6b), 다양한 MODS, 8) PD-L1 및 9) 항-CD28 단일 쇠 Fv를 보유하는, 중쇄 연계로 발현되는 IGRP 기반 synTac 용합(도 6c)의 성공적인 발현.

도 7a-7b: TCR-synTac-PD1 다리연결(Bridging): synTac 단백질 성분들의 일체성을 입증. 동족 TCR (A6)를 발현시키는 HEK 세포는 양성 대조로 이용되며, 비-동족 TCR (AS01)을 발현시키는 세포는 형질도입안된(untransduced) 부계 세포와 함께, 음성 대조로 생성되어 이용되었다. 세포들은 비-형광 정제된 HTLV-PD-L1 synTac 변이체들로 공격을 받았고, 뮤린 IgG2a에 용합된 이의 동족 수용체 PD1와 함께 항온처리되었다. PD1-Fc 용합물은 FITC 라벨된 항-마우스 2차 항체를 이용하여 탐지되었다. 상기 반응은 도 7a에서 도식으로 나타내며, FACS 결과는 도 7b에 나타난다. 예상과 같이, AHTLV 제시하는 PD-L1 MOD를 가진(WITH) synTac가 동족 (A6) HEK 세포 계통에 대하여 공격받았을 때만 공동-국소화된 형광이 관찰되었다. 아주 흥미로운 것은 비-동족 TCR 보유 HEK 세포 또는 부계 세포에 맞서 공격을 받았을 때, 오직 FITC-PD1-Fc에 맞서 공격을 받았을 때 또는 MOD가 부재중일 때, 이것은 관찰되지 않았다.

도 8a-8d: 작용에서 SynTac: 시험관내 T 세포 분석. 8.3 유전자삽입된 NOD 마우스의 CD8+ T 세포들은 다클론성 T 세포 활성화를 촉진시키기 위하여 고정된 항-CD3 항체 존재 하에서 배양되었다. 자극된 배양물은 임의의 억제 효과의 항원 특이성을 검사하기 위하여 synTac TUM-PD-L1 (도 8a) 또는 synTac IGRP-PD-L1 (도 8c)의 가용성 형태로 처리되었다. PD-L1이 없는 synTac IGRP 형태 (도 8b)는 MOD 도메인의 작동체 대조로 이용되었다. 접종(seeding) 전, 세포들은 T 세포 활성화-유도된 세포성 증식의 정도를 모니터하기 위하여, 카복시플루오레신 숙시니미딜 에스테르 (CFSE)로 라벨되었다. 세포들은 5일차에 회수되었고, 생존력 및 증식에 대하여 유동세포분석(flow cytometry)을 이용하여 검사되었다. 복합화된 유동 세포분석 비드 검사(multiplexed flow cytometric bead assay)를 이용하여 CD8+ T 세포 작동체 사이토킨 IFN γ 및 TNF α 의 발현에 대하여 상청액이 또한 검사되었다. 검사된 모든 CD8+ T 세포 활성화 매개변수들은 항원-특이적 그리고 작동체 (가령 MOD) 도메인-의존적 방식으로 억제되었다 (도 8d).

도 9a-9f는 synTac 폴리펩티드의 아미노산 서열 및 도메인 구조를 제공한다.

도 10a-10c는 4-1BBL 삼량체 발현을 위한 구조체를 나타낸다. 막 기부 (Memb Prox, MP) 및 TNF 상동성 (TNF-H) 도메인들을 나타내는 고유의 4-1BBL 엑토도메인 (잔기 50-254)의 단량체 형태(도 10a), 4-1BBL 이량체 synTac (도 10b), 그리고 친화력 태그가 없는 "자유(free)" 형 4-1BBL 엑토-도메인 (잔기 50-254, 도 10a)과 함께 전통적인 synTac 구조체들의 공동 발현을 통하여 생성된 4-1BBL synTac의 완전하게 활성화된 이중 삼량체 형태 (도 10c)의 그림. 포유류 세포에서 함께 발현될 때 모든 구조체들이 어셈블리된다. 정제는 상기 Fc 영역 (단백질 A/G)을 통하여 진행되고, 이어서 자유 BBL로부터 4-1BBL 삼량체 synTac의 분리를 허용하는 크기 압출(size exclusion)이 이어진다.

도 11a-11b. synTac 단백질을 보유하는 삼량체 4-1BBL의 다각도 광산란(MALS) 분석. (도 11a) MALS를 통하여 확인된 주요 종들의 분자량, 다수의 독립적 특정 실시예를 보여준다. (도 11b) 상대적으로 높은 수준의 빛 산란과 낮은 UV 흡수를 가진 synTac 40+51의 MALS의 대표적인 추적, 고분자량의 단백질 소량이 존재한다는 것을 반영한다. 저분자량 완충액 성분들은 UV 흡수도에서 연합된 변화없이, 굴절 지수 (양성 또는 음성)에서 큰 변화를 야기한다.

도 12. SynTac 4-1BBL 수용체 결합. 단백질 A 마이크로비드는 재조합 인간 또는 마우스 4-1BBL-Fc 용합 단백질로

포화되도록 피복되며, 공동-조정 도메인으로써 4-1BB 리간드 (이량체 및 삼량체)를 보유하는 synTac 구조체에 결합시키는데 이용되고, 그 다음 synTac 중쇄 이소타입에 특이적인 형광 탐지된다. 그 다음 비드-보유 4-1BB에 대한 synTac 4-1BBL의 특이적 결합 정도는 고처리량 유동세포분석에 의해 측정된다. 이 시스템을 이용하여, 인간 및 무린 4-1BB에 대한 4-1BBL의 교차 반응성 및 상대적 친화력 정도는 synTac 스캐폴드에서 조사되었다. 4-1BBL 보유 synTacs는 동족 수용체에 결합되지만, 그러나 "수용체-없는" (MOD 없음으로 지칭됨) Fc 결합된 마이크로비드에는 결합하지 않는 것을 보여주었고, 이는 잘-폴르된 그리고 활성 물질임을 암시한다. 특히, 고유 이량체와 이중 삼량체 연계의 경우 예측된 친화력 범위 안에서 결합된 상기 삼량체는 결합 친화력에서 10배 감소를 보이며, 모든 구조체들은 무린과 인간 수용체들 사이에 교차 반응한다.

도 13. 8.3 유전자삽입된 NOD 마우스의 CD8⁺ T 세포들은 다클론성 T 세포 활성화를 촉진시키기 위하여 고정된 항-CD3 항체 존재하에서 배양되었다. 자극된 배양물은 임의의 자극 효과의 항원 특이성을 검사하기 위하여, synTac TUM-41BBL (A) 또는 synTac IGRP-41BBL (B 및 C)의 가용성 형태로 처리되었다. 대조 처리는 배지 단독 (- CNTRL) 또는 기준 반응 크기에 대하여 고정된 항-CD3 (+ CNTRL)이다. 세포들은 T 세포 활성화-유도된 세포성 증식의 정도를 모니터링하기 위하여, 카르복시플루오레신 숙시니미딜 에스테르 (CFSE)로 라벨되었다. 4 일 후, 세포들은 회수되었고, 생존력 및 증식에 대하여 유동세포분석(flow cytometry)을 이용하여 검사되었다. 복합화된 유동 세포분석 비드 검사를 이용하여 CD8⁺ T 세포 작동체 사이토킨 IFN γ 및 TNF α 의 발현에 대하여 상청액이 또한 검사되었다. 검사된 모든 CD8⁺ T 세포 활성화 매개변수들은 항원-특이적 그리고 작동체 (가령 MOD) 도메인-의존적 방식으로 활성화되었다.

도 14. 단일 투여분량 생체내 T 세포 자극 분석. NOD 마우스에게 복막내로 synTac IGRP-41BBL, synTac TUM-41BBL 또는 PBS를 주사하였다. 주사 후 6일 차, 상기 마우스들은 희생되고, 적절한 펩티드-MHC 오량체 착색을 이용하여 IGRP-특이적 CD8 T 세포의 상대적 빈도에 대한 유동세포분석을 통하여 비장세포들이 검사되었다. IGRP-41BBL 처리는 대조와 비교하여 훨씬 더 높은 빈도의 IGRP-특이적 CD8 T 세포와 연합되었으며, 이는 단일 투여분량으로부터 상당한 생체내 확장을 뒷받침한다.

도 15. 다중 투여분량 생체내 T 세포 자극 분석. 2주간에 걸쳐 3가지 투여 분량에 대하여 NOD 마우스에게 복막내로 synTac IGRP-41BBL, synTac TUM-41BBL 또는 PBS를 주사하였다. 주사 후 7일 차, 상기 마우스들은 희생되고, 적절한 펩티드-MHC 오량체 착색을 이용하여 IGRP-특이적 CD8 T 세포의 상대적 빈도에 대한 유동세포분석을 통하여 PBMC 's(혈액으로부터) 검사되었다. IGRP-41BBL 처리는 대조와 비교하여 훨씬 더 높은 빈도의 IGRP-특이적 CD8 T 세포와 연합되었으며, 이는 희귀-종양 특이적 T 세포(TUM)가 포함된 다중 투여분량으로부터 상당한 생체내 확장을 뒷받침한다.

도 16a-16b. 4-1BBL 삼량체 발현을 위한 최적화된 구조체의 도식. 이황화 맞물림 (도 16a, DL) 및 단일 쇠 삼량체 (도 16b, SCT).

도 17. SynTac 4-1BBL 수용체 결합. 단백질 A 마이크로비드는 제조함 인간 또는 마우스 4-1BB-Fc 융합 단백질로 포화되도록 피복되며, 공동-조정 도메인으로써 (이황화 맞물림 삼량체 (69, 70 및 71) 및 단일 쇠 삼량체 (SCT) 4-1BB 리간드 (이량체 및 삼량체)를 보유하는 synTac 구조체에 결합시키는데 이용되고, 그 다음 synTac 중쇄 이소타입에 특이적인 형광 탐지된다. 나타낸 고유의 삼량체는 결합 대조 (삼량체)이다. 그 다음 비드 보유 (borne) 4-1BB에 대한 synTac 4-1BBL의 특이적 결합 정도는 고처리량 유동세포분석에 의해 측정된다. 4-1BBL 보유 synTacs는 동족 수용체에 결합되지만, 그러나 "수용체-없는" (MOD 없음으로 지칭됨) Fc 결합된 마이크로비드에는 결합하지 않는 것을 보여주었고, 이는 잘-폴르된 그리고 활성 물질임을 암시한다. 모든 구조체들은 무린과 인간 수용체들 사이에 교차 반응한다.

도 18. 최적화된 4-1BBL 구조체의 발현 확인. 원래 4-1BBL 조정물질 (synTac 40/51, 이황화 잠김, 라벨된 "0" 로 라벨된 (최초), 이황화 맞물림이 없는)과 상기 삼량체 입체형태를 제한하는 조작된 이황화 맞물림이 포함된 3개의 최적화된 구조체와 함께 공동 발현에 의해 생성된 SynTac. 각 구조체에서 2개의 고유의 잔기는 시스템인 잔기 (Q94C:P245C (겔에서 "DL1" 로 라벨됨), Q94C:P242C "DL2", 및 Q89C:L115C "DL3", 각각 synTac 69, 70 및 71)로 대체되었고, 세포안에서 공유적 맞물림을 허용하기 위하여 동일한 돌연변이 (각각 98,99,100로 명명됨)를 품고 있는 "자유" 비-태그된 형태로 인간 세포서 공동-발현되었다. 이황화 결합 정도는 비-환원된 SDS PAGE 분석에서 방출된 (비-공유적으로 결합된) "자유" 4-1BBL의 양으로 관찰되었다. 자유-BBL은 ~20 kDa (BOX)에서 이동할 것이며, 조작된 구조체들의 이황화 맞물림이 확인된다. 4-1BBL의 단일-쇄-삼량체 형태(SCT)를 가지는 SynTac는 다음의 친화력 및 겔 여과 순도 ("SCT" 로 라벨됨)를 또한 나타낸다. 정확한 양은 다각도

빛 산란 (MALS)에 의해 확인된다.

도 19a-19i. 본 명세서의 synTac 구조체의 구체예를 도식으로 나타낸 것이다. 도 19a-19c는 도 2a-2c 각각과 관련하여 설명된 구조체들을 나타낸다; 도 19b 및 19c에서 P2A 절단안된 폴리펩티드 (상부)를 나타내고, 그리고 설명된 시스테인 치환 (*)에 의해 중개된, 이황화 결합(SS)를 갖는 절단된 폴리펩티드 (P2A-중개된 자가-절단을 통하여)(하부)를 나타낸다. 도 19d-19f는 도 8a-8c 각각과 관련하여 상기에서 설명된 구조체들을 나타낸다; 각 도 19d-19f에서 P2A 절단안된 형태가 설명되며(상부), 설명된 시스테인 치환 (*)에 의해 중개된, 이황화 결합(SS)를 갖는 P2A-중개된 자가-절단된 폴리펩티드(하부)를 나타낸다. 도 19g는 도 9b와 관련하여 synTac40 구조체의 일반화된 형태를 나타내는데, 설명된 바와 같이 절단안된 형태의 폴리펩티드(상부) 및 자가-절단절단된/이황화 결합된 (하부) 폴리펩티드이다. 도 19h는 도 9c-9e와 관련하여 synTac69, synTac70 및 synTac71의 일반화된 형태를 나타내는데, 절단안된 폴리펩티드(상부) 및 자가-절단절단된/이황화 결합된 (하부) 폴리펩티드가 설명되며, 추가 4-1BBL 도메인에서 추가 시스테인 치환 또한 표시되어 있다 (*). 도 19i는 도 9f와 관련하여 synTac 4-1BBL 단일 쇄 삼량체 (SCT)의 일반화된 형태를 나타내는데, 절단안된 폴리펩티드(상부) 및 자가-절단절단된/이황화 결합된 (하부) 폴리펩티드가 설명된다.

도 20은 호모 사피엔스(*Homo sapiens*) (NP_004039.1; 서열 번호:78), 썬 트로글로디테스(*Pan troglodytes*) (NP_001009066.1; 서열 번호:79), 마카카 무라타(*Macaca mulatta*)(NP_001040602.1; 서열 번호:80), 보스 타우루스(*Bos Taurus*) (NP_776318.1; 서열 번호:81) 및 무스 무스쿨루스(*Mus musculus*) (NP_033865.2; 서열 번호:82)로부터 베타-2 마이크로글로블린 (B2M) 전구물질들 (가령, 리더 서열 포함)의 다중 핵산 아미노산 배열을 제공한다.

도 21은 서열 번호:6의 구조체의 도메인 구조를 제공한다.

도 22는 서열 번호:7의 구조체의 도메인 구조를 제공한다.

도 23은 IGRP-특이적 CD8⁺ T 세포의 빈도에 있어서 synTac IGRP-PDL1, synTac TUM-PDL1, 또는 인산염-완충된 염수 (PBS)의 생체내 투여 효과를 나타낸다.

도 24a-24c는 면역글로블린 Fc 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 25a-25c는 인간 백혈구 항원 (HLA) 클래스 I 중쇄 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 26a-26b는 PD-L1 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 27은 4-1BBL 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 28은 ICOS-L 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 29는 OX40L 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 30은 PD-L2 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 31은 CD80 (B7-1) 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 32는 CD86 (B7-2) 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 33은 Fas 리간드 (FAS-L) 폴리펩티드의 아미노산 서열을 제공한다.

도 34a-34h는 본 명세서의 synTac 구조체들의 구체예들의 도면을 제공하며, 여기에서 시스테인 치환 (*)에 의해 중개된 이황화 결합(SS)이 설명된다. 이들 구체예에 있어서, 별도 폴리펩티드 안에 존재하는 MHC (가령, HLA) 폴리펩티드 사이에 이황화 결합이 형성된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

[0050]

본 명세서에서 이용된 바와 같이, "리더 서열(leader sequence)"은 인간 B2M 리더가 포함된, 포유류 세포에 의해 프로세스될 수 있는 임의의 신호 펩티드를 포함한다. 이러한 서열들은 당분야에 공지되어 있다.

[0051]

본 명세서에서 이용된 바와 같이, 예를 들면, 요소 A 및 요소 B에 대하여 "연속하여(contiguous with)"는 요소 A는 요소 B가 인접하고, 그리고 다른 명시가 없는 한, 바람직하게는 공유 결합을 통하여 요소 B에 결합된다는 것을 의미한다. 예를 들면, 제 1 서열의 아미노산, 연속하여 제 2 서열의 아미노산 경우, 상기 제 1 서열의

[0052]

아미노산의 C-말단은 상기 제2 서열의 아미노산의 N-말단에 펩티드 결합에 의해 연결될 수 있다.

- [0053] 상기 용어 "펩티드", "폴리펩티드", 및 "단백질"은 본 명세서에서 호환사용되며, 그리고 코드화된 그리고 비-코드화된 아미노산들, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된 또는 유도화된 아미노산의 폴리머형태, 그리고 변형된 펩티드 기본골격을 갖는 폴리펩티드를 의미한다. 상기 용어들은 공동-해독(가령, 신호 펩티드 절단) 그리고 상기 폴리펩티드의 해독-후, 이를 테면, 예를 들면, 이황화-결합 형성, 글리코실화, 아세틸화, 포스포틸화, 단백질분해성 절단, 이와 유사한 것을 갖는 폴리펩티드를 또한 포함한다. 더욱이, 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "폴리펩티드"는 해당 단백질이 원하는 활성을 유지하는 한, 고유 서열에 있어서 변형, 이를 테면 결손, 추가, 및 치환(당분야에 공지된 바와 같이 일반적으로 보존적)이 포함된 단백질을 지칭한다. 부위-지향적인 돌연변이 생성을 통하여 이들 변형이 의도적이거나, 또는 이를 테면 상기 단백질을 만드는 숙주의 돌연변이를 통하여, 또는 이들 변형은 PCR 증폭 또는 다른 재조합 DNA 방법들로 인한 오류에 의해 우연한 것일 수 있다.
- [0054] 핵산 분자를 설명하기 위하여 본 명세서에서 사용된 용어 "재조합"은 게놈, cDNA, 바이러스, 반합성, 및/또는 이의 기원 또는 조작에 있어서 자연상태에서 연합된 폴리뉴클레오티드 서열의 전부 또는 일부와 연합되지 않는, 합성 기원의 폴리뉴클레오티드를 의미한다. 단백질 또는 폴리펩티드에 있어서 이용된 바와 같이 용어 "재조합"은 재조합 폴리뉴클레오티드로부터 발현에 의해 만들어진 폴리펩티드를 지칭한다. 숙주 세포 또는 바이러스에 있어서 이용된 바와 같이 용어 "재조합"은 재조합 폴리뉴클레오티드가 도입된 숙주 세포 또는 바이러스를 지칭한다. 물질(가령, 세포, 핵산, 단백질, 또는 벡터)에 있어서 본 명세서에서 재조합은 이종(heterologous) 물질(가령, 세포, 핵산, 단백질, 또는 벡터)의 도입에 의해 변형된 물질을 지칭하는데 또한 이용된다.
- [0055] 상기 용어 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", "핵산" 및 "핵산 분자"는 본 명세서에서 호환되며, 리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드인 뉴클레오티드의 폴리머 형태를 포함한다. 이 용어는 분자의 일차 구조만을 지칭한다. 따라서, 상기 용어는 삼중-, 이중- 및 단일-가닥으로된 DNA, 뿐만 아니라 삼중-, 이중- 및 단일-가닥으로된 RNA를 포함한다. 상기 용어는 변형, 이를 테면 메틸화 및/또는 캡핑(capping)을 가진 분자, 및 변형안된 형태의 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 좀더 구체적으로, 상기 용어 "폴리뉴클레오티드", "올리고뉴클레오티드", "핵산" 및 "핵산 분자"는 폴리데옥시리보뉴클레오티드(2-데옥시-D-리보스를 포함), 폴리리보뉴클레오티드(D-리보스를 포함), 퓨린 또는 피리미딘 염기의 N- 또는 C-글리코시드인 임의의 다른 유형의 폴리뉴클레오티드, 그리고 비-뉴클레오티드 기본골격이 포함된 다른 폴리머들, 폴리머들, 그리고 상기 폴리머들은 이를 테면, DNA 및 RNA에서 볼 수 있는 염기 쌍형성(pairing) 및 염기 쌓기(stacking)를 허용하는 입체형태의 핵염기를 포함하고 있는 한, 다른 합성 서열-특이적 핵산 폴리머들을 포함한다.
- [0056] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "벡터"는 핵산 서열을 표적 세포로 전달할 수 있는 운반체를 지칭한다. 예를 들면, 벡터는 표적 세포 안에서 발현될 수 있는 코딩 서열을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "벡터 구조체", "발현 벡터", 및 "유전자 전달 벡터"는 관심 유전자 발현을 지시하고, 관심 유전자를 표적 세포 안으로 전달하는데 유용한 임의의 핵산 구조체를 일반적으로 지칭한다. 따라서, 상기 용어는 클로닝 및 발현 운반체, 뿐만 아니라 통합(integrating) 벡터들과 비-통합 벡터들을 포함한다. 따라서 벡터들은 표적 세포로 핵산 서열을 전달할 수 있으며, 일부 경우에서, 핵산 서열을 조작하는데 이용되는데, 가령, 핵산 서열을 복합(가령, 재조합 핵산 서열을 만들고) 및 이와 유사한 것을 하는데 이용된다. 본 명세서의 목적을 위하여, 벡터들은 플라스미드, 파아지, 트랜스포존, 코스미드, 바이러스, 및 이와 유사한 것들이 포함되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0057] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "발현 카세트"는 관심대상의 유전자/코딩 서열이 포함된 임의의 RNA 전사체, 뿐만 아니라 비-해독안된 RNAs의 발현을 지시할 수 있는 임의의 핵산 구조체를 포함한다. 이러한 카세트들은 이 발현 카세트를 표적 세포 안으로 전달하기 위하여, "벡터", "벡터 구조체", "발현 벡터", 또는 "유전자 전달 벡터"로 구축될 수 있다. 따라서, 상기 용어는 클로닝 및 발현 운반체, 뿐만 아니라 바이러스 벡터들을 포함한다. 발현 카세트의 전사체는 안정적으로 또는 일과적으로 발현될 수 있고, 상기 숙주 게놈(표적화된 또는 표적화되지 않은 방식)안으로 통합된 카세트로부터 발현될 수 있거나 또는 바람직하지 않는 경우 비-통합된 상태로 남아있다.
- [0058] "작동가능하도록 연계된다(Operably linked)"란 병치(juxtaposition)를 지칭하는데, 이때 설명된 성분들은 의도된 방식으로 기능을 발휘하는 것이 허용되는 관계에 있다. 예를 들면, 한 프로모터가 서열의 전사 또는 발현에 영향을 준다면, 코딩 서열에 상기 프로모터가 작동가능하도록 연계된다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 상기 용어 "이종 프로모터(heterologous promoter)" 및 "이종 조절 영역들(heterologous control regions)"

"은 자연 상태에서 특정 핵산과 정상적으로 연합되지 않는 프로모터와 다른 조절 영역들을 지칭한다. 예를 들면, "코딩 영역에 이중인 전사 조절 영역"은 자연 상태에서 코딩 영역과 정상적으로 연합되지 않는 전사 조절 영역이다.

[0059] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "면역학적 시냅스(immunological synapse)" 또는 "면역 시냅스(immune synapse)"는 적응 면역 반응의 2개의 상호작용 면역 세포 사이의 자연적 접촉면, 가령, 항원-제공 세포(APC) 또는 표적 세포와 작동체 세포, 가령, 림프구, 작동체 T 세포, 자연적 킬러 세포, 및 이와 유사한 것 사이의 접촉면을 지칭한다. APC와 T 세포 사이의 면역학적 시냅스는 T 세포 항원 수용체와 주요 조직적합성 복합 분자들의 상호작용에 의해 일반적으로 개시되는데, 가령, Bromley et al., Annu Rev Immunol. 2001;19:375-96에서 설명되며, 이의 내용은 본 명세서에서 이의 전문이 참고자료로 편입된다.

[0060] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 핵산 서열, 단백질 또는 폴리펩티드 관련하여 용어 "이종(heterologous)"이란 이들 분자는 상기 이종 핵산 서열, 단백질 또는 폴리펩티드가 유도되었던 세포 형태 안에서 자연적으로 발생되지 않는다는 것을 의미한다. 예를 들면, 인간 세포가 아닌 세포 안으로 삽입된 인간 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열은 이러한 특정 내용에서 이종 핵산 서열이다. 이종 핵산들이 상이한 유기체 또는 동물 종으로부터 유도될 수 있지만, 이러한 핵산은 이중이 되는 별도의 유기체 종으로부터 유도되어야 할 필요는 없다. 예를 들면, 일부 경우에 있어서, 합성 핵산 서열 또는 이로부터 인코딩된 폴리펩티드는 해당 세포가 이전에 합성 핵산을 포함하고 있지 않았던 세포 안으로 도입된 세포에 대하여 이중성일 수 있다. 이와 같이, 합성 핵산 서열 또는 이로부터 인코딩된 폴리펩티드는 가령, 비록 상기 합성 핵산 서열 또는 이로부터 인코딩된 폴리펩티드의 하나 또는 그 이상의 성분들이 인간 세포로부터 원래 유도되었다하더라도, 인간 세포에 대하여 이중성으로 간주될 수 있다.

[0061] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "숙주 세포"는 생체내 또는 시험관내 진핵 세포 또는 단일세포성 엔티티(entity)로써 배양된 다중세포성 유기체(가령, 세포계)의 세포를 의미하며, 진핵 세포는 핵산의 수용체이거나, 또는 이었거나, 수용체로 이용될 수 있고(가령, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터), 그리고 핵산에 의해 유전적으로 변형된 고유 세포의 후손을 포함한다. 단일 세포의 후손은 자연적, 우연적 또는 고의적 돌연변이로 인하여, 원래 부모와 완전히 동일한 형태, 유전자 또는 전체 DNA 보체가 완벽하게 동일할 필요가 없다는 것을 이해해야 한다. "재조합 숙주 세포"(또는 "유전적으로 변형된 숙주 세포"로 지칭됨)는 이종 핵산, 가령, 발현 벡터가 도입된 숙주 세포다. 예를 들면, 유전적으로 변형된 진핵 숙주 세포는 적합한 진핵 숙주 세포 안으로 이종 핵산, 가령, 상기 진핵 숙주 세포에 대하여 이물질인 외생성 핵산, 또는 진핵 숙주 세포 안에서 통상적으로 볼 수 없는 재조합 핵산의 도입에 의해 유전적으로 변형된다.

[0062] 일부 경우에 있어서, 폴리펩티드 및 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산이 포함된 핵산 또는 아미노산 서열은 하나 또는 그 이상 기준 서열과 비교하여, "서열 유사성(sequence similarity)" 또는 "서열 동일성(sequence identity)"을 근거하여 지칭된다. 다른 경우에 있어서, 돌연변이체 또는 변이체 서열은 하나 또는 그 이상 기준 서열과 비교에 근거하여 지칭될 수 있다. 서열 비교를 위하여, 일반적으로 하나의 서열이 기준 서열로 작용하여, 테스트 서열들과 비교된다. 서열 비교 알고리즘을 이용할 때, 테스트 서열 및 기준 서열을 컴퓨터에 입력하고, 필요한 경우, 하위서열 좌표(coordinates)가 지정되며, 서열 알고리즘 프로그램 매개변수들이 지정된다. 그 다음 서열 비교 알고리즘은 지정된 프로그램 매개변수들에 근거하여 기준 서열과 비교하여 테스트 서열(들)에 대한 서열 동일성 백분율을 관찰한다.

[0063] 필요하거나 또는 바람직한 경우, 비교를 위한 서열들의 최적 배열은 예를 들면, Smith and Waterman의 국소 상동성 알고리즘(Adv. Appl. Math. 2:482 (1981), 본 명세서에서 참고자료에 편입됨), Needleman and Wunsch의 상동성 배열 알고리즘(J. Mol. Biol. 48:443-53 (1970), 본 명세서에서 참고자료에 편입됨), Pearson and Lipman의 유사성 방법을 위한 조사(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-48 (1988), 본 명세서에서 참고자료에 편입됨), 이들 알고리즘의 자동화된 이행(가령, Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.에서 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), 또는 시각적 조사(일반적으로 Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA Biology, 4th ed., John Wiley and Sons, New York (1999) 참고)에 의해 실행될 수 있다.

[0064] "T 세포"는 T-헬퍼 세포(CD4⁺ 세포), 세포독성 T-세포(CD8⁺ 세포), T-조절 세포(Treg), 및 NK-T 세포가 포함된 CD3을 발현시키는 모든 유형의 면역 세포를 포함한다.

[0065] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "공동-자극 리간드(Co-stimulatory ligand)"는 T 세포 상에 동족 공동-자극

분자에 특이적으로 결합하고, 이로 인하여 예를 들면, 펩티드가 적하된 MHC 분자와 TCR/CD3 복합체의 결합에 의해 제공되는 일차 신호에 추가하여, 증식, 활성화, 분화, 및 이와 유사한 것이 포함된 T 세포 반응을 증대하는 항원 제공 세포 상의 분자(가령, APC, 수지상 세포, B 세포, 및 이와 유사한 것)를 포함한다. 공동-자극 리간드는 CD7, B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), PD-L1, PD-L2, 4-1BBL, OX40L, Fas 리간드 (FasL), 유도성 상호자극적 리간드 (ICOS-L), 세포간 흡착 분자 (ICAM), CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, 림프독소 베타 수용체, 3/TR6, ILT3, ILT4, HVEM, To11 리간드 수용체에 결합하는 항진제 또는 항체, 그리고 B7-H3에 특이적으로 결합하는 리간드를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 공동-자극 리간드는 그중에서도 T 세포 상에 존재하는 공동-자극 분자에 특이적으로 결합하는 항체, 이를 테면, CD27, CD28, 4-1BB, OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, 림프구 기능-연합된 항원-1 (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, B7-H3, 및 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드를 또한 포함한다.

[0066] 상기 용어 "정제", "단리", 및 이와 유사한 것이란 바람직하지 못한 물질들, 가령, 오염물질이 포함된 용액으로부터 바람직한 물질, 가령, 재조합 단백질의 떼내거나, 또는 바람직한 물질들이 포함된 용액으로부터 바람직하지 못한 물질들을 제거하여, 기본적으로 바람직한 물질만을 남겨두는 것을 지칭한다. 일부 경우들에 있어서, 정제된 물질은 기본적으로 다른 물질들, 가령, 오염물질이 없는 것일 수 있다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 정제하는 것이란 상이한 생성물 순도 범위, 가령, 이때 상기 정제된 물질은 용액에서 85% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상, 99.9% 이상, 및 이와 유사한 것이 포함된, 이들 모든 물질이 80% 이상으로 구성된 범위를 지칭한다. 당업자가 이해하는 바와 같이, 일반적으로 용액 자체, 가령, 물 또는 완충액의 성분들, 또는 염은 물질의 순도를 결정할 때 고려되지 않는다.

[0067] 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 상기 용어 "처리", "처리하는", 및 이와 유사한 것은 바람직한 약리학적 및/또는 생리적 효과를 얻는 것을 말한다. 상기 효과는 질환 또는 이의 증상을 완전하게 또는 부분적으로 방지하는 점에 있어서 예방적이거나 및/또는 질환 및/또는 이 질환의 원인이 되는 역 효과의 부분적인 또는 완전한 치료에 있어서 치료요법적일 수 있다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, "치료"는 포유류, 가령, 인간에서 질환의 임의의 치료를 포괄하는데, 다음을 포함한다: (a) 상기 질환에 걸리기 쉬운 성향이 있지만, 아직 이 질환에 걸린 것으로 진단을 받지 않는 대상에서 이 질환이 발생하는 것을 방지; (b) 이 질환의 저해, 가령, 질환의 발생을 저지; 그리고 (c) 이 질환을 완화, 가령, 이 질환의 퇴행을 야기.

[0068] 본 명세서에서 호환이 사용되는 용어 "개인", "대상", "숙주", 및 "환자"는 뮤린 (가령, 랫, 마우스), 토끼목 (가령, 토끼), 비-인간 영장류, 인간, 개, 고양이, 발굽동물 (가령, 말, 소, 양, 돼지, 염소), 등이 포함되나, 이에 국한되지 않는 포유류를 지칭한다.

[0069] "치료요법적으로 효과량" 또는 "효과적인 양"은 질환을 치료하기 위하여 포유류 또는 다른 대상에게 투여될 때 이 질환의 이러한 치료에 충분히 효과적인 경우, 물질의 양, 또는 2개 물질의 복합량을 지칭한다. 상기 "치료요법적으로 효과량"은 물질(들), 상기 질환 및 이의 심각성 및 치료될 대상의 연령, 성별, 체중 등에 따라 달라질 것이다.

[0070] 본 발명을 더 설명하기에 앞서, 본 발명은 설명된 특정 구체예들에 의해 제한되지 않으며, 물론 그럴 수 있을지 몰라도 변화될 수 있다. 또한 본 명세서에서 이용된 용어는 단지 특정 구체예를 설명하기 위한 목적이며, 본 발명의 범위는 오로지 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되기 때문에 제한적인 용도가 아님을 인지해야 한다.

[0071] 값의 범위가 제공될 때, 다른 언급이 없는 한, 각 사이 값, 하위 한계 단위의 10/1, 그 범위의 상위와 하위 한계 사이, 그리고 다른 언급된 또는 언급된 범위의 중간 값은 이 방법 안에 포함된다. 이들 더 작은 범위의 상위 한계와 하위 한계는 더 작은 범위 안에 독립적으로 포함될 수 있고, 또한 본 발명에 포괄되며, 명시된 범위 안에 임의의 특별히 배제될 수 있다. 언급된 범위 안에 하나 또는 두 한계가 포함될 때, 이들 포함된 한계중 하나 또는 모두가 배제된 범위 또한 본 발명에 포함된다.

[0072] 명시적으로 다른 언급이 없는 한, 본 명세서에서 이용된 모든 기술적 그리고 과학적 용어는 본 발명이 속하는 당업계 숙련자들에 의해 공통적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 비록 본 발명의 실시 또는 테스트에 있어서 본 명세서에서 설명된 것들과 유사한 또는 대등한 임의의 방법 및 재료들이 또한 이용될 수 있지만, 바람직한 방법들과 재료들이 지금 설명된다. 본 명세서에서 언급된 모든 공개는 이들의 언급과 연계된 방법 및/또는 재료의 공개 및 설명을 하기 위하여 이 참고자료에 편입된다.

[0073] 본 명세서에서 및 첨부된 청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수("a", "an" 및 "the")는 다른 명시적인 언

- [0083] LLFGYPVYVCGGSGGGGSGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWFSYLLYYTEFTPTKDEYACRVNHVTL SQPKIVKWRDMGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGATNFSLLKQAGDVEENPGMRSVALAVLALLSLSGLEAFTITAPKDLVYVEYGSNV TMECRFPVERELDLLALVYWEKEDEQVIQFVAGEEDLKPQHSNFRGRASLPKQDLKGNAAALQITDVKLQDAGVYCCIISYGGADYKRITLKVNPYRKIN QRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIWTNSDHQVPSGKRVSVTSRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHTAELIPELPPATHPPQNRTGG GGGGGGGGGGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPFIAVGYVDDTQFVRFVSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQTHRVDLGLTRGC YNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWRFLRGYHQYAYDGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRVRYLENGKETLQRTDAPK THMTHHAVSDHEATLRCWALSFPYAEITLTWQRDGEDQTQDELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDKTHTTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYVTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGKGGSHHHHHHHH (서열 번호:7).
- [0084] 각각 이의 번역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 제 조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질이 또한 제공된다.
- [0085] 각각 이의 번역글로블린 Fc 도메인 사이에 하나 또는 그 이상의 이황화결합에 의해 연결된 본 명세서의 상기 제 조합 폴리펩티드 구조체들중 2개가 포함된 단백질이 또한 제공된다.
- [0086] 본 발명은 synTac 플랫폼을: 표적화된 T 세포 활성화를 위한 인공의 면역학적 시냅스를 제공한다.
- [0087] 한 구체예에서, 상기 베타 2 마이크로글로블린은 인간 베타 2 마이크로글로블린과 동일한 서열을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 조직적합성 복합체 중쇄 서열은 인간 HLA-A 서열과 동일한 서열을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 조직적합성 복합체 중쇄 막통과 도메인은 인간 주요 조직적합성 복합 I (MHC I) 중쇄 막통과 도메인과 동일한 서열을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 조직적합성 복합체 중쇄 막통과 도메인은 인간 주요 조직적합성 복합 II (MHC II) 중쇄 막통과 도메인과 동일한 서열을 갖는다.
- [0088] 다수의 상기 구조체들이 포함된 조성물이 또한 제공된다.
- [0089] 한 구체예에서, 상기 후보 에피토프 펩티드는 8, 9, 10, 11 또는 12개의 아미노산 펩티드이다. 한 구체예에서, 상기 후보 에피토프 펩티드는 13, 14, 15, 16, 또는 17개의 아미노산 펩티드이다. 한 구체예에서, 상기 후보 에피토프 펩티드는 구량체 (길이가 9개의 아미노산)이다.
- [0090] 본 명세서는 2개 또는 그 이상의 (가령, 2, 3, 4개, 또는 그 이상의) 폴리펩티드 쇄를 포함하는 다량체 폴리펩티드를 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; ii) 제1 주요 조직적합성 복합 (MHC) 폴리펩티드가 포함된 제 1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 선택적으로 번역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드 또는 비-Ig 스캐폴드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 상기 다량체 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상 면역조정 도메인들을 포함하는데, 여기에서 상기 하나 또는 그 이상 면역조정 도메인(들)은 다음과 같다: A) 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단; B) 상기 제2 폴리펩티드의 N-말단; C) 상기 제2 폴리펩티드의 C-말단; 또는 D) 상기 제1 폴리펩티드의 C-말단 그리고 상기 제2 폴리펩티드의 N-말단.
- [0091] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하며, 여기에서 상기 제1 폴리펩티드는 아미노 말단 (N-말단)에서 카르복실 말단 (C-말단)의 순서로 a) 에피토프 (가령, T-세포 에피토프); b) 제1 주요 조직적합성 복합 (MHC) 폴리펩티드 및 c) 면역조정 폴리펩티드를 포함하며; 그리고 여기에서 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 b) 번역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함한다. 다른 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하며, 여기에서 상기 제1 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프 (가령, T-세포 에피토프); 그리고 b) 제1 MHC 폴리펩티드; 그리고 여기에서 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 면역조정 폴리펩티드; b) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 c) Ig Fc 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 클래스 I MHC 폴리펩티드이며; 가령, 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 (B2M) 폴리펩티드이며, 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 (H 쇄)이다. 다른 경우들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 클래스 II MHC 폴리펩티드이며; 가령, 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II α -쇄 폴리펩티드이고, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II β -쇄 폴리펩티드이다. 다른 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 MHC 클래스 II β -쇄 폴리펩티드이고, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II α -쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는

2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 경우, 일부 경우들에 있어서, 상기 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드는 동일한 폴리펩티드 쇄에 존재하고, 그리고 나란히(in tandem) 존재할 수 있다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드를 포함하는 경우, 일부 경우들에 있어서, 상기 2개 또는 그 이상의 면역조정 폴리펩티드는 별개의 폴리펩티드에 존재한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 이중이량체다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 삼량체 폴리펩티드다.

[0092] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 상기 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드; 그리고 iii) 면역조정 도메인이 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 상기 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 ii) 면역조정 도메인이 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; 그리고 ii) 제1 MHC 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 면역조정 도메인; 그리고 ii) 제2 MHC 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 에피토프; ii) 제1 MHC 폴리펩티드; 그리고 iii) 면역조정 도메인이 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 제2 MHC 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 여기에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 비-Ig 스캐폴드를 포함하며, 상기 비-Ig 스캐폴드는 XTEN 펩티드, 트란스페린 폴리펩티드, Fc 수용체 폴리펩티드, 엘라스틴-유사 폴리펩티드, 실크-유사 폴리펩티드, 또는 실크-엘라스틴-유사 폴리펩티드이다.

[0093] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 단가(monovalent)이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 다가(multivalent)이다. 예를 들면, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 Fc 폴리펩티드에 따라, 상기 다량체 폴리펩티드는 동종이량체일 수 있고, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드의 2개 분자는 동종이량체에 존재하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드의 2개 분자는 상기 2개 분자에 존재하는 Fc 폴리펩티드를 통하여 서로 연계된 이황화일 수 있다. 또다른 실시예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 상기 다량체 폴리펩티드의 3개, 4개, 또는 5개 분자를 포함할 수 있고, 여기에서 다량체 폴리펩티드의 상기 분자들은 가령, 이 분자들에 존재하는 Fc 폴리펩티드를 통하여 서로 연계된 이황화일 수 있다.

[0094] **링커(Linkers)**

[0095] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 가령, 에피토프와 MHC 폴리펩티드 사이, MHC 폴리펩티드와 면역조정 폴리펩티드 사이, 또는 MHC 폴리펩티드와 Ig Fc 폴리펩티드 사이에 끼어있는 링커 펩티드를 포함한다.

[0096] 적합한 링커들 (또는 "스페이스(spacers)"로 지칭됨)은 용이하게 선택될 수 있는데, 임의의 수의 적합한 길이, 이를 테면 1개의 아미노산 (가령, Gly) 내지 20개의 아미노산, 2개의 아미노산 내지 15개의 아미노산, 4개의 아미노산 내지 10개의 아미노산, 5개의 아미노산 내지 9개의 아미노산, 6개의 아미노산 내지 8개의 아미노산, 또는 7개의 아미노산 내지 8개의 아미노산이 포함된, 3개의 아미노산 내지 12개의 아미노산일 수 있으며, 그리고 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 아미노산일 수 있다.

[0097] 예시적인 링커들은 글리신 폴리머들 (G)_n, 글리신-세린 폴리머들 (예를 들면, (GS)_n, (GSGGS)_n (서열 번호:8) 및 (GGGS)_n (서열 번호:9) 포함하며, 여기에서 n은 최소한 1의 정수임), 글리신-알라닌 폴리머들, 알라닌-세린 폴리머들, 그리고 당분야에 공지된 다른 연성 링커들을 포함한다. 글리신 및 글리신-세린 폴리머들이 이용될 수 있으며; Gly 및 Ser은 상대적으로 파괴되지 않고, 따라서 성분들 사이의 중성 사슬(tether)로 기능할 수 있다. 글리신 폴리머들이 이용될 수 있으며; 글리신은 심지어 알라닌보다 파이-프사이(phi-psi) 공간에 더 많이 접근하며, 더 긴 측쇄를 가진 잔기들보다 덜 제한된다 (Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992) 참고). 예시적인 링커는 GGSG (서열 번호:10), GSGG (서열 번호:11), GSGSG (서열 번호:12), GSGGG (서열 번호:13), GGGSG (서열 번호:14), GSSSG (서열 번호:15), 및 이와 유사한 것을 포함하나, 이에 국한되지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0098] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드에 존재하는 링커 폴리펩티드는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드에 존재하는 시스템 잔기와 이황화 결합을 형성할 수 있는 시스템

인 잔기를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 예를 들면, 적합한 링커는 아미노산 서열 GCGASGGGGSGGGGS (서열 번호:16)을 포함한다.

[0099] **에피토프(Epitopes)**

[0100] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 에피토프는 약 4개의 아미노산 내지 약 25개의 아미노산, 가령, 상기 에피토프는 4 아미노산 (aa) 내지 10 aa, 10 내지 15 aa, 15 내지 20 aa, 또는 20 내지 25개의 aa 길이를 가질 수 있다. 예를 들면, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 에피토프는 4개의 아미노산 (aa), 5 aa, 6 aa, 7, aa, 8 aa, 9 aa, 10 aa, 11 aa, 12 aa, 13 aa, 14 aa, 15 aa, 16 aa, 17 aa, 18 aa, 19 aa, 20 aa, 21 aa, 22 aa, 23 aa, 24 aa, 또는 25개의 aa의 길이를 가질 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 에피토프는 5개의 아미노산 내지 10개의 아미노산, 가령, 5 aa, 6 aa, 7 aa, 8 aa, 9 aa, 또는 10개의 aa 길이를 갖는다.

[0101] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 에피토프는 T-세포에 의해 특이적으로 결합되는데, 가령, 상기 에피토프는 에피토프-특이적 T 세포에 의해 특이적으로 결합된다. 에피토프-특이적 T 세포는 기준 아미노산 서열을 갖는 에피토프에 결합하지만, 기준 아미노산 서열과 상이한 에피토프에 실질적으로 결합하지 않는다. 예를 들면, 에피토프-특이적 T 세포는 기준 아미노산 서열을 갖는 에피토프에 결합하고, 기준 아미노산 서열과 상이한, 적어도, 10^{-6} M 미만, 10^{-5} M 미만, 또는 10^{-4} M 미만의 친화력으로 에피토프에 결합한다. 에피토프-특이적 T 세포는 최소한 10^{-7} M, 최소한 10^{-8} M, 최소한 10^{-9} M, 또는 최소한 10^{-10} M의 친화력을 가진 특이적인 에피토프에 결합한다.

[0102] 에피토프의 비-제한적인 예로는, 가령, 인간 T-백혈병 바이러스-1 에피토프 LLFGYPVYV (서열 번호:17); 종양 에피토프 KYQAVTTTL (서열 번호:18); 그리고 섬(islet)-특이적 포도당-6-포스파타제 촉매 소단위-관련된 단백질 (IGRP) 에피토프 VYLKTNVFL (서열 번호:19) 또는 TYLKTNLFL (서열 번호:20)을 포함한다. Yang et al. (2006) *J. Immunol.* 176:2781.

[0103] **MHC 폴리펩티드**

[0104] 상기에서 명시된 바와 같이, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 MHC 폴리펩티드를 포함한다. 본 명세서의 목적을 위하여, 용어 "주요 조직적합성 복합 (MHC) 폴리펩티드"는 인간 MHC (또는 인간 백혈구 항원 (HLA)로도 불림) 폴리펩티드, 설치류 (가령, 마우스, 랫, 등) MHC 폴리펩티드, 그리고 (가령, 토끼목, 비-인간 영장류, 개과, 고양이, 발굽동물 (가령, 말, 소, 양, 염소, 등)), 및 이와 유사한 것의 MHC 폴리펩티드가 포함된 다양한 종의 MHC 폴리펩티드를 의미한다. 용어 "MHC 폴리펩티드"는 클래스 I MHC 폴리펩티드 (가령, β -2 마이크로글로블린 및 MHC 클래스 I 중쇄) 그리고 MHC 클래스 II 폴리펩티드 (가령, MHC 클래스 II α 폴리펩티드 및 MHC 클래스 II β 폴리펩티드)를 포함한다는 것을 의미한다.

[0105] 상기에서 명시된 바와 같이, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 일부 구체예들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 클래스 I MHC 폴리펩티드이며; 가령, 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 (B2M) 폴리펩티드이며, 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 (H 쇠)이다. 다른 경우들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 클래스 II MHC 폴리펩티드이며; 가령, 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II α -쇄 폴리펩티드이고, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II β -쇄 폴리펩티드이다. 다른 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 MHC 클래스 II β -쇄 폴리펩티드이고, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II α -쇄 폴리펩티드이다.

[0106] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 폴리펩티드는 인간 MHC 폴리펩티드이며, 여기에서 인간 MHC 폴리펩티드는 또한 "인간 백혈구 항원" ("HLA") 폴리펩티드로 또한 지칭된다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 폴리펩티드는 클래스 I HLA 폴리펩티드, 가령, β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드, 또는 클래스 I HLA 중쇄 폴리펩티드이다. 클래스 I HLA 중쇄 폴리펩티드는 HLA-A 중쇄 폴리펩티드, HLA-B 중쇄 폴리펩티드, HLA-C 중쇄 폴리펩티드, HLA-E 중쇄 폴리펩티드, HLA-F 중쇄 폴리펩티드, 및 HLA-G 중쇄 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 폴리펩티드는 클래스 II HLA 폴리펩티드, 가령, 클래스 II HLA α 쇠 또는 클래스 II HLA β 쇠이다. MHC 클래스 II 폴리펩티드는 MHC 클래스 II DP α 및 β 폴리펩티드, DM α 및 β 폴리펩티드, DOA α 및 β 폴리펩티드, DOB α 및 β 폴리펩티드, DQ α 및 β 폴리펩티드, 그리고 DR α 및 β 폴리펩티드를 포함한다.

[0107] 예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 도 25a에서 나타낸 바와 같이 인간

HLA-A 중쇄 폴리펩티드의 아미노산 서열의 아미노산 25-36에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0108] 예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 다음의 인간 HLA-A 중쇄 아미노산 서열의 아미노산 서열의 아미노산 25-36에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0109] GSHSMRYFFTSVSRPGRGPERF IAVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQTHRVDLGLTRGYNQSEAGSHTVQRMYGCD VGSWRFLRGYHQYAYDGDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCW ALSFYPAEITLTWQRDGEDTQDTEL VETRPAGDGTQKWA AVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWE (서열 번호:5).

[0110] 또다른 실시예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 도 25b에서 나타낸 바와 같이 인간 HLA-B 중쇄 폴리펩티드의 아미노산 서열의 아미노산 25-36에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0111] 또다른 실시예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 도 25c에서 나타낸 바와 같이 인간 HLA-C 중쇄 폴리펩티드의 아미노산 서열의 아미노산 25-36에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0112] 또다른 실시예로써, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0113] GPHSRLRYFVTA VSRPGLGPERF IAVGYVDDTQFVRFDSADNPRFEPAPWMEQEGPEYWEEQTQRAKSDEQWFRVSLRTAQRYNQSKGGSHTFQRMFGCD VGSWRLLRGYQFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALITRRKWEQAGDAEYRAYLEGECEVWLRRYLELGNETLLRTDSPKAHVYHPRSQVDVTLRCW ALGFYPADITLTWQLNGEDLTQDMELVETRPAGDGTQKWA AVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTLRW (서열 번호:22).

[0114] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 β 2-미크로글로블린 (B2M) 폴리펩티드는 인간 B2M 폴리펩티드, 비-인간 영장류 B2M 폴리펩티드, 뮤린 B2M 폴리펩티드, 및 이와 유사한 것일 수 있다. 일부 경우들에 있어서, B2M 폴리펩티드는 도 20에 나타낸 B2M 아미노산 서열에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0115] 일부 경우들에 있어서, MHC 폴리펩티드는 기준 MHC 폴리펩티드와 비교하여 단일 아미노산 치환을 포함하며 (여기에서 기준 MHC 폴리펩티드는 야생형 MHC 폴리펩티드일 수 있음), 여기에서 단일 아미노산 치환은 아미노산을 시스테인 (Cys) 잔기로 치환시킨다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 MHC 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드에 존재할 때 이러한 시스테인 잔기는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드 쇠에 존재하는 시스테인 잔기와 함께 이황화 결합을 형성할 수 있다.

[0116] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드의 제1 MHC 폴리펩티드, 및/또는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드의 제2 MHC 폴리펩티드는 한 아미노산이 시스테인으로 치환된 아미노산 치환을 포함하며, 여기에서 상기 제1 MHC 폴리펩티드의 치환된 시스테인은 상기 제2 MHC 폴리펩티드의 시스테인과 함께 이황화 결합을 형성하며, 여기에서 상기 제1 MHC 폴리펩티드에서 시스테인은 상기 제2 MHC 폴리펩티드에서 치환된 시스테인과 함께 이황화결합을 형성하거나, 또는 여기에서 상기 제1 MHC 폴리펩티드에서 치환된 시스테인은 상기 제2 MHC 폴리펩티드에서 치환된 시스테인과 함께 이황화 결합을 형성한다.

[0117] 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, HLA β 2-미크로글로블린 및 HLA 클래스 I 중쇄에서 다음 잔기쌍중 하나는 시스테인으로 치환된다: 1) B2M 잔기 12, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 236; 2) B2M 잔기 12, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 237; 3) B2M 잔기 8, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 234; 4) B2M 잔기 10, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 235; 5) B2M 잔기 24, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 236; 6) B2M 잔기 28, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 232; 7) B2M 잔기 98, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 192; 8) B2M 잔기 99, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 234; 9) B2M 잔기 3, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 120; 10) B2M 잔기 31, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 96; 11) B2M 잔기 53, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 35; 12) B2M 잔기 60, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 96; 13) B2M 잔기 60, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 122; 14) B2M 잔기 63, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 27; 15) B2M 잔기 Arg3, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Gly120; 16) B2M 잔기 His31, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Gln96; 17) B2M 잔기 Asp53, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Arg35; 18) B2M 잔기 Trp60, HLA 클래스 I 중

쇄 잔기 Gln96; 19) B2M 잔기 Trp60, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Asp122; 20) B2M 잔기 Tyr63, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Tyr27; 21) B2M 잔기 Lys6, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Glu232; 22) B2M 잔기 Gln8, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Arg234; 23) B2M 잔기 Tyr10, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Pro235; 24) B2M 잔기 Ser11, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Gln242; 25) B2M 잔기 Asn24, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Ala236; 26) B2M 잔기 Ser28, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Glu232; 27) B2M 잔기 Asp98, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 His192; 그리고 28) B2M 잔기 Met99, HLA 클래스 I 중쇄 잔기 Arg234. 상기 MHC/HLA 클래스 I 중쇄의 아미노산 넘버링은 신호 펩티드가 없는, 성숙한 MHC/HLA 클래스 I 중쇄를 참고한다. 예를 들면, 신호 펩티드가 포함된, 도 25a에 나타낸 아미노산 서열에서, Gly120은 Gly144이며; Gln96은 Gln120이며; 등등과 같다.

[0118] **면역조정 폴리펩티드**

[0119] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 활성화 면역조정 폴리펩티드 또는 저해성 면역조정 폴리펩티드일 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 단일 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 2개의 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 2개의 면역조정 폴리펩티드는 폴리펩티드 쇠에서 나란히 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 2개의 면역조정 폴리펩티드는 별개의 폴리펩티드 쇠에 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 2개의 면역조정 폴리펩티드는 별개의 폴리펩티드 쇠에 있고, 서로 이항화 연계된다.

[0120] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 일부 경우들에 있어서 T-세포 조정 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T-세포 조정 폴리펩티드는 자극 (활성화) T-세포 조정 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 T-세포 조정 폴리펩티드는 저해성 T-세포 조정 폴리펩티드이다. T-세포 조정 폴리펩티드는 항체, 펩티드 리간드, T-세포 공동-자극 폴리펩티드, 사이토킨, 또는 독소일 수 있다.

[0121] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 에피토프-특이적 T 세포의 표면 상에 발현되는 공동-자극 폴리펩티드에 특이적으로 결합하는 항체-기반의 또는 비-항체-기반의 인지 모이어티드이다. 항체-기반의 인지 모이어티드는 가령, 항체; 항원에 특이적으로 결합을 유지하는 항체의 단편, Fab, Fv, 단일-쇄 Fv (scFv), 및 Fd 단편들이 포함되나, 이에 국한되지 않는 항체의 단편들; 키메라 항체; 인간화된 항체; 단일-쇄 항체 (scAb), 단일 도메인 항체 (dAb); 단일 도메인 중쇄 항체; 단일 도메인 경쇄 항체; 그리고 이와 유사한 것들을 포함한다. 적합한 비-항체-기반의 인지 모이어티드는 가령, 아피바디(affibodies); 조작된 Kunitz 도메인들; 모노바디 (아드넥틴(adnectins)); 안티칼린(anticalins); 압타머(aptamers); 디자인된 안키린 (ankyrin) 반복 도메인들 (DARPs); 시스테인-풍부(enriched) 폴리펩티드의 결합 부위 (가령, 시스테인-풍부 노트인(knottin) 펩티드); 아비머(avimers); 아플린(afflins); 그리고 이와 유사한 것들을 포함한다. 항체-기반의 또는 비-항체-기반의 인지 모이어티드는 에피토프-특이적 T 세포의 표면 상에 발현되는 공동-자극 폴리펩티드에 특이적으로 결합하며, 여기에서 이러한 공동-자극 폴리펩티드는 CTLA4, PD1, ICOS, OX40, CD20, 및 4-1BB를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 에피토프-특이적 T 세포의 표면 상에 발현되는 공동-자극 폴리펩티드는 당업계에 공지되어 있다.

[0122] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 T-세포 공동-자극 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 T-세포 공동-자극 폴리펩티드이며, 그리고 종양 괴사 인자 (TNF) 슈퍼패밀리의 구성원; 가령, FasL 폴리펩티드, 41BBL 폴리펩티드, CD40 폴리펩티드, OX40L 폴리펩티드, CD30L 폴리펩티드, CD70 폴리펩티드, 등이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 T-세포 공동-자극 폴리펩티드이며, 상기 면역글로블린 (Ig) 슈퍼패밀리의 구성원; 가령, CD7 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, ICAM 폴리펩티드, 등이다.

[0123] 적합한 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 CD80 (B7-1), CD86 (B7-2), 4-1BBL, OX40L, ICOS-L, ICAM, PD-L1, FasL, 및 PD-L2을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 적합한 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 면역조정 폴리펩티드는 가령, CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, 림프독소 베타 수용체, 3/TR6, ILT3, ILT4, 및 HVEM을 포함한다.

[0124] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 PD-L1 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 PD-L1 폴리펩티드는 도 26a 또는 26b에 나타낸 PD-L1 아미노산 서열의 아미노산 19-290에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0125] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드다. 일부

경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 4-1BBL 폴리펩티드는 도 27에 나타난 4-1BBL 아미노산 서열의 아미노산 50-254에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0126] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 ICOS-L 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 ICOS-L 폴리펩티드는 도 28에 나타난 ICOS-L 아미노산 서열의 아미노산 19-302에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0127] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 OX40L 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 OX40L 폴리펩티드는 도 29에 나타난 OX40L 아미노산 서열의 아미노산 1-183에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0128] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 PD-L2 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 PD-L2 폴리펩티드는 도 30에 나타난 PD-L2 아미노산 서열의 아미노산 20-273에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0129] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 CD80 (B7-1) 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 CD80 폴리펩티드는 도 31에 나타난 CD80 아미노산 서열의 아미노산 35-288에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0130] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 CD86 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 CD86 폴리펩티드는 도 32에 나타난 CD86 아미노산 서열의 아미노산 31-329에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0131] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 T-세포 조정 폴리펩티드는 FasL 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 FasL 폴리펩티드는 도 33에 나타난 FasL 아미노산 서열의 아미노산 1-281에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0132] 더욱이 본 발명에서 이용될 수 있는 T 세포 조정 도메인들 (MODs)은 자연 발생적 또는 합성 인간 유전자 산물 (단백질), 전통적인 그리고 비-전통적인 (가령, FGF2, IL1, S100A4) 분비 기전으로부터 발생하는 모든 분비된 단백질, 그리고 자연 발생적 유전적으로 인코딩된 단백질 세그먼트 (단일 또는 다중 막 범위)에 의해 고정된 모든 세포 표면 단백질의 엑토-도메인들 또는 해독-후 변형 이를 테면 GPI 연계가 포함되나, 이에 국한되지 않는 인간 유전자 산물을 표적화하는 친화력 시약 (가령, 항체, 항체 단편, 단일쇄 Fvs, 압타머, 나노바디)을 포함한다. 임의의 자연 발생적 또는 합성 친화력 시약 (가령, 항체, 항체 단편, 단일쇄 Fvs, 압타머, 나노바디, 렉틴 등)은 세포 표면 글리칸 또는 다른 해독-후 변형 (가령, 황산화)을 표적으로 한다. 예로는 상기 TNF/TNFR 패밀리의 구성요소들 (OX40L, ICOSL, FASL, LTA, LTB TRAIL, CD153, TNFSF9, RANKL, TWEAK, TNFSF13, TNFSF13b, TNFSF14, TNFSF15, TNFSF18, CD40LG, CD70) 또는 상기 TNF/TNFR 패밀리 구성원을 지향하는 친화력 시약; 상기 면역글로블린 슈퍼패밀리의 구성요소들 (VISTA, PD1, PD-L1, PD-L2, B71, B72, CTLA4, CD28, TIM3, CD4, CD8, CD19, T 세포 수용체 α s, ICOS, ICOS 리간드, HHLA2, 부티로필린(butyrophilins), BTLA, B7-H3, B7-H4, CD3, CD79a, CD79b, IgSF CAMS (CD2, CD58, CD48, CD150, CD229, CD244, ICAM-1 포함), 백혈구 면역글로블린 유사 수용체들 (LILR), 킬러 세포 면역글로블린 유사 수용체들 (KIR)), 렉틴 슈퍼패밀리 구성요소들, 셀렉틴, 사이토킨/케모킨 및 사이토킨/케모킨 수용체들, 성장 인자들 그리고 성장 인자 수용체들), 흡착 분자들 (인테그린, 피브로넥틴, 캐드헤린), 또는 다중-스핀테그랄(multi-spintegral) 막 단백질의 엑토-도메인들, 또는 상기 면역글로블린 슈퍼패밀리를 지향하는 친화력 시약, 그리고 열거된 유전자 산물을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 또한, 이들 유전자 산물의 활성 상동체/오르소로그(orthologs)는 바이러스 서열 (가령, CMV, EBV), 박테리아 서열, 곰팡이 서열, 진핵 병원체들 (가령, 쉬스토조마(*Schistosoma*), 플라스모디움(*Plasmodium*), 바베시아(*Babesia*), 에이메리아(*Eimeria*), 테이레리아(*Theileria*), 톡소플라스마(*Toxoplasma*), 엔타모에바(*Entamoeba*), 레이쉬마니아(*Leishmania*), 및 트리파노소마(*Trypanosoma*)), 그리고 포유류 -유도된 코딩 영역들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 또한, MOD는 인간 유전자 산물을 표적으로 하는 작은 분자들을 포함할 수 있다.

[0133] **Fc 폴리펩티드**

[0134] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 Fc 폴리펩티드, 또는 또다른 적합한 스캐폴드 폴리펩티드를 포함한다.

[0135] 적합한 스캐폴드 폴리펩티드는 항체-기반의 스캐폴드 폴리펩티드 및 비-항체-기반의 스캐폴드들을 포함한다. 비-항체-기반의 스캐폴드는 가령, 알부민, XTEN (연장된 재조합) 폴리펩티드, 트란스페린, Fc 수용체 폴리펩티드, 엘라스틴-유사 폴리펩티드 (가령, Hassounh et al. (2012) *Methods Enzymol.* 502:215; 가령, (Val-Pro-Gly-X-Gly)의 5가 펩티드 반복 단위를 포함하는 폴리펩티드, 여기에서 X는 프롤린이외의 임의의 아미노산이며), 알부민-결합 폴리펩티드, 실크-유사 폴리펩티드 (가령, Valluzzi et al. (2002) *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 357:165 참고), 실크-엘라스틴-유사 폴리펩티드 (SELP; 가령, Megeed et al. (2002) *Adv Drug Deliv Rev.* 54:1075 참고), 및 이와 유사한 것을 포함한다. 적합한 XTEN 폴리펩티드는 가령, WO 2009/023270, WO 2010/091122, WO 2007/103515, US 2010/0189682, 및 US 2009/0092582에서 설명된 것들을 포함하고; 또한 Schellenberger et al. (2009) *Nat Biotechnol.* 27:1186을 참고한다. 적합한 알부민 폴리펩티드는 가령, 인간 혈청 알부민을 포함한다.

[0136] 적합한 스캐폴드 폴리펩티드는 일부 경우들에 있어서 반감기 연장 폴리펩티드일 것이다. 따라서, 일부 경우들에 있어서, 적합한 스캐폴드 폴리펩티드는 상기 스캐폴드 폴리펩티드가 없는 대조 다량체 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 생체내 반감기(가령, 혈청 반감기)를 증가시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 스캐폴드 폴리펩티드는 상기 스캐폴드 폴리펩티드가 없는 대조 다량체 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 생체내 반감기(가령, 혈청 반감기)를 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 50%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 최소한 약 25-배, 최소한 약 50-배, 최소한 약 100-배, 또는 100-배 이상으로 증가시킨다. 예로써, 일부 경우들에 있어서, Fc 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드가 없는 대조 다량체 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 생체내 반감기(가령, 혈청 반감기)를 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 50%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 최소한 약 25-배, 최소한 약 50-배, 최소한 약 100-배, 또는 100-배 이상으로 증가시킨다.

[0137] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 상기 Fc 폴리펩티드는 인간 IgG1 Fc, 인간 IgG2 Fc, 인간 IgG3 Fc, 인간 IgG4 Fc, 등등 일 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24a-c에 나타난 Fc 영역의 아미노산 서열에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 영역은 도 24a에 나타난 인간 IgG1 Fc 폴리펩티드에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24a에 나타난 인간 IgG2 Fc 폴리펩티드에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다; 가령, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24a에 나타난 인간 IgG2 Fc 폴리펩티드의 아미노산 99-325에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24a에 나타난 인간 IgG3 Fc 폴리펩티드에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다; 가령, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24a에 나타난 인간 IgG3 Fc 폴리펩티드의 아미노산 19-246에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24b에 나타난 인간 IgM Fc 폴리펩티드에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다; 가령, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24b에 나타난 인간 IgM Fc 폴리펩티드의 아미노산 1-276에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24c에 나타난 인간 IgA Fc 폴리펩티드에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다; 가령, 상기 Fc 폴리펩티드는 도 24c에 나타난 인간 IgA Fc 폴리펩

티드의 아미노산 1-234에 대하여 최소한 약 70%, 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0138] **추가 폴리펩티드**

[0139] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 폴리펩티드 쇠는 상기에 설명된 것에 추가하여, 하나 또는 그 이상 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 적합한 추가 폴리펩티드는 에피토프 태그(tags) 및 친화력 도메인들을 포함한다. 상기 하나 또는 그 이상 추가 폴리펩티드는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 폴리펩티드 쇠의 N-말단, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 폴리펩티드 쇠의 C-말단, 또는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 폴리펩티드 쇠의 내부에 포함될 수 있다.

[0140] *에피토프 태그(Epitope tag)*

[0141] 적합한 에피토프 태그는 헤마글루티닌 (HA; 가령, YPYDVPDYA (서열 번호:23); FLAG (가령, DYKDDDDK (서열 번호:24); c-myc (가령, EQKLISEEDL; 서열 번호:25), 및 이와 유사한 것을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0142] *친화력 도메인(Affinity domain)*

[0143] 친화력 도메인들은 결합 짝, 가령, 이를 테면 고휘형 지지물 상에 고정된 결합 짝과 상호작용할 수 있는 펩티드 서열을 포함하며, 이때 상기 결합 짝은 식별 또는 정제에 유용하다. 다중 연속 단일 아미노산, 이를 테면 히스티딘을 인코딩하는 DNA 서열들이 발현된 단백질에 융합될 때, 이 서열은 수지 컬럼, 이를 테면 니켈 세파로스에 고 친화력 결합에 의해 재조합 단백질의 1-단계 정제에 이용될 수 있다. 예시적인 친화력 도메인들은 His5 (HHHHH) (서열 번호:26), HisX6 (HHHHHH) (서열 번호:27), C-myc (EQKLISEEDL) (서열 번호:25), Flag (DYKDDDDK) (서열 번호:24), StrepTag (WSHPQFEK) (서열 번호:28), 헤마글루티닌, 가령, HTag (YPYDVPDYA) (서열 번호:23), 글루타민-S-전달효소 (GST), 티오레독신, 셀룰로오스 결합 도메인, RYIRS (서열 번호:30), Phe-His-His-Thr (서열 번호:31), 치틴 결합 도메인, S-펩티드, T7 펩티드, SH2 도메인, C-단부 RNTag, WEAAAREACCRECCARA (서열 번호:32), 금속 결합 도메인들, 가령, 아연 결합 도메인들 또는 칼슘 결합 도메인들, 이를 테면 칼슘-결합 단백질의 것들, 가령, 칼모둘린, 트로포닌 C, 칼시네우린 B, 미오신 경쇄, 레커버린, S-모둘린, 비시닌, VILIP, 뉴로칼신, 히포칼린, 프레케닌, 칼트락틴, 칼파인 거대-소단위, S100 단백질, 파르브알부민, 칼빈딘 D9K, 칼빈딘 D28K, 그리고 칼레티닌, 인테인스, 비오틴, 스트렙타아비딘, MyoD, Id, 류신 지퍼 서열, 및 말토즈 결합 단백질을 포함한다.

[0144] **변형(Modifications)**

[0145] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 상기 다량체 폴리펩티드에 공유적으로 연계된 하나 또는 그 이상 비-폴리펩티드 모이어티를 포함할 수 있다. 적합한 비-폴리펩티드 모이어티는 가령, 생체적합성 지방산 및 및 이의 유도체들; 히드록시 알킬 전분 (HAS) 가령 히드록시 에틸 전분 (HES); 폴리(에틸렌 글리콜); 히알루론산 (HA); 헤파로산 폴리머들 (HEP); 포스포틸콜린-기반의 폴리머들; 텍스트란; 폴리-시알산 (PSA); 그리고 이와 유사한 것들을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 비-폴리펩티드 모이어티는 상기 비-폴리펩티드 모이어티가 포함되지 않은 대조 다량체 폴리펩티드와 비교하였을 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 생체내 반감기를 증가시킨다.

[0146] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 탐지가능한 라벨을 포함한다. 적합한 탐지가능한 라벨은 방사능동위원소 이를 테면 ¹²³¹I (요오드), ¹⁸F (불소), ⁹⁹Tc (테크네튬), ¹¹¹In (인듐), ⁶⁷Ga (갈륨), 방사능활성 Gd 동위원소 (¹⁵³Gd); 조영제, 이를 테면 가돌리늄 (Gd), 디스프로슘, 그리고 철; 탐지가능한 산물을 만드는 효소 (가령, 루시페라제, β-갈락토시다제, 말 양고추냉이 과산화효소, 알칼리 포스파타제, 및 이와 유사한 것); 형광 단백질; 색원성 단백질, 염료 (가령, 플루오레신 이소티오시아네이트, 로다민, 피코에리트린, 및 이와 유사한 것); 형광 방출 금속, 가령, ¹⁵²Eu, 또는 란타넘계의 다른 것들; 화학적발광 화합물들, 가령, 루미놀, 이소루비놀, 아크리디니움 염들, 및 이와 유사한 것; 생물발광 화합물들; 그리고 이와 유사한 것들을 포함한다.

[0147] **활성**

[0148] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 존재하는 면역조정 ("MOD") 폴리펩티드의 성질에 따라서, 상기 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포를 활성화시키거나 또는 저해시킬 수 있다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 상기 다량체 폴리펩티드에 존재하는 에피토프에 특이적인 표적 T 세포를 선택적으로 활성화시키거나 또는 저해시킨다. "표적 T 세포"는 에피토프-특이적 CD4⁺ T 세포, 에피토프-특이적 CD8⁺ T 세포를 포함한다. 일부 경우들에 있어서,

상기 표적 CD4⁺ T 세포는 헬퍼 T 세포 (가령, Th1, Th2, 또는 Th17 세포)이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 표적 CD4⁺ T 세포는 CD4⁺/CD25⁺/FoxP3⁺ 조절 T (Treg) 세포이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 표적 T 세포는 CD8⁺ T 세포이며, 세포독성 T 세포다. 일부 경우들에 있어서, 상기 표적 T 세포는 기억 T 세포로서, CD4⁺ T 세포 또는 CD8⁺ T 세포일 수 있고, 여기에서 기억 T 세포는 일반적으로 CD45RO⁺이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 표적 T 세포는 NK-T 세포이다.

[0149] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 T 세포 호밍(homing) 및 트래피킹(trafficking)을 강화시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 치료 부위로 표적 T 세포의 분출을 증가시킨다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉안된 표적 T 세포의 분출 수준과 비교하였을 때, 치료 부위로 표적 T 세포의 분출을 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 75%, 최소한 2-배, 최소한 5-배, 최소한 10-배, 최소한 15-배, 최소한 20-배, 최소한 25-배, 최소한 50-배, 최소한 100-배, 또는 100-배 이상으로 증가시킨다. 증가된 배출은 치료 부위에서 T 세포의 수를 증가시킨다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 치료 부위에서 T 세포의 수를 증가시킨다.

[0150] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 상기 표적 T 세포에 의한 림프구 트래피킹을 증대 또는 조절하는 하나 또는 그 이상 단백질의 표적 T 세포에 의한 발현을 증가시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 상기 표적 T 세포에서 하나 또는 그 이상 흡착 분자들 및/또는 케모킨 수용체 분자들의 수준을 증가시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 상기 표적 T 세포에 의한 하나 또는 그 이상 흡착 분자들 및/또는 케모킨 수용체 분자들의 발현을 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉되지 않은 표적 T 세포에 의해 생산되는 흡착 분자 및/또는 케모킨 수용체 분자의 수준과 비교하였을 때, 최소한 2-배, 최소한 5-배, 최소한 10-배, 최소한 15-배, 최소한 20-배, 최소한 25-배, 최소한 50-배, 최소한 100-배, 또는 100-배 이상으로 증가시킨다. 흡착 분자들의 예로는 CD8 T 세포에 의해 생산되는 흡착 분자들을 포함하는데, 여기에서 이러한 흡착 분자들의 예로는 CD44, LFA-1, 및 VLA-4를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 케모킨 수용체들의 예로는 CD8 T 세포에 의해 생산되는 케모킨 수용체들을 포함하나, 여기에서 이러한 케모킨 수용체들의 예로는 CCR5, CCR7 및 CXCR3을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0151] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 이미 경험했던 에피토프에 대항하여 신속한 세포독성 반응을 할 수 있는 기억 T 세포를 만든다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉하였을 때, 0.5% 또는 그 이상의 항원-특이적 T 세포 풀(pool)이 포함된 기억 T 세포의 생성을 초래한다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉할 때, 0.5% 또는 그 이상의, 1% 또는 그 이상의, 2% 또는 그 이상의, 3% 또는 그 이상의, 4% 또는 그 이상의, 5% 또는 그 이상의, 10% 또는 그 이상의, 15% 또는 그 이상의, 또는 20% 또는 그 이상의 항원-특이적 T 세포 풀이 포함된 기억 T 세포의 생성을 초래한다. T 기억 세포의 세포 표면 표지의 예는 CD45RO이다.

[0152] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포의 증식을 증가시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉되지 않은 표적 T 세포의 증식과 비교하였을 때, 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 75%, 최소한 2-배, 최소한 5-배, 최소한 10-배, 최소한 15-배, 최소한 20-배, 최소한 25-배, 최소한 50-배, 최소한 100-배, 또는 100-배 이상으로 상기 표적 T 세포의 증식을 증가시킨다.

[0153] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 세포를 지향하는 T 세포의 세포독성 활성을 증가시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉되지 않은 표적 세포를 지향하는 T 세포의 세포독성 활성과 비교하였을 때, 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 75%, 최소한 2-배, 최소한 5-배, 최소한 10-배, 최소한 15-배, 최소한 20-배, 최소한 25-배, 최소한 50-배, 최소한 100-배, 또는 100-배 이상으로 표적 세포를 지향하는 T 세포의 세포독성 활성을 증가시킨다. T 세포의 표적은 바이러스-감염된 세포, 암 세포, 및 이와 유사한 것을 포함한다.

[0154] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포에 의한 사이토킨 생산을 증가시킨다. 예

를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때, 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉되지 않는 표적 T 세포에 의해 생산된 사이토킨 수준과 비교하였을 때 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 75%, 최소한 2-배, 최소한 5-배, 최소한 15-배, 최소한 20-배, 최소한 25-배, 최소한 50-배, 최소한 100-배, 또는 100-배 이상으로 표적 T 세포에 의한 사이토킨 생산을 증가시킨다. 사이토킨의 예로는 Th1 세포에 의해 생산된 사이토킨, 가령, IL-2, IFN- γ , 및 TNF- α ; Th17 세포에 의해 생산된 사이토킨, 가령, IL-17, IL-21, 및 IL-22; Treg 세포에 의해 생산된 사이토킨, 가령, TGF- β , IL-35, 및 IL-10을 포함한다.

[0155] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포에 의한 사이토킨 생산을 억제시킨다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 표적 T 세포와 접촉될 때 상기 다량체 폴리펩티드와 접촉되지 않는 표적 T 세포에 의해 생산된 사이토킨 수준과 비교하였을 때 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 또는 최소한 90%, 또는 90% 이상으로 표적 T 세포에 의한 사이토킨 생산을 억제시킨다. 사이토킨의 예로는 Th2 세포에 의해 생산된 사이토킨, 가령, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, 및 IL-13을 포함한다.

[0156] **예시적인 구체예들**

[0157] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 비-제한적인 예들은 다음을 포함한다:

[0158] 1) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 4-BBL 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0159] 2) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) PD-L1 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또

는 친화력 도메인을 포함하고;

[0160]

3) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) ICOS-L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0161]

4) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) OX40L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0162]

5) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) CD80 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이

용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0163]

6) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) CD86 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0164]

7) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) PD-L2 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0165]

8) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) 4-BBL 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다.

일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0166] 9) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) PD-L1 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0167] 10) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) ICOS-L 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0168] 11) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) OX40L 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리

펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0169] 12) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) CD80 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0170] 13) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) CD86 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0171] 14) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) PD-L2 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상

기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0172] 15) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; 그리고 ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) FasL 폴리펩티드; ii) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 iii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0173] 16) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 4-BBL 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0174] 17) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 PD-L1 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을

제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0175]

18) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 ICOS-L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0176]

19) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 OX40L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0177]

20) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 CD80 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로

글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0178]

21) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 CD86 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구제예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0179]

22) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 PD-L2 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구제예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0180]

23) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 나란히 있는 2개의 FasL 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-미크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-미크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스

테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0181]

24) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 4-1BBL 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 4-1BBL 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 4-1BBL 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0182]

25) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 PD-L1 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 PD-L1 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 PD-L1 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0183]

26) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 ICOS-L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 ICOS-L 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 ICOS-L 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0184]

27) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 OX40L 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 OX40L 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 OX40L 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0185]

28) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 CD80 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 CD80 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링

켜 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 CD80 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0186]

29) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 CD86 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 CD86 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 CD86 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

[0187]

30) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) CD80 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) CD86 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 CD80 폴리펩티드와 CD86 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고;

티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고; 그리고

[0188] 31) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 PD-L2 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 PD-L2 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 PD-L2 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함하고; 그리고

[0189] 32) a) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) T-세포 에피토프; ii) MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드; 그리고 iii) 제 1의 FasL 폴리펩티드가 포함된 제1 폴리펩티드; 그리고 b) N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 i) MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드; 그리고 ii) Ig Fc 폴리펩티드가 포함된 제2 폴리펩티드; 그리고 c) 제2의 FasL 폴리펩티드가 포함된 제3 폴리펩티드를 포함하는 다량체 폴리펩티드. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 서로 이황화 연계되고; 그리고 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드는 에피토프와 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 사이에 링커 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 링커 폴리펩티드에 있는 시스테인 잔기와 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제2 폴리펩티드는 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기와 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드에 존재하는 시스테인 잔기를 통하여 서로 이황화 연계되며; 이들 구체예들중 일부의 경우에서, 상기 MHC 클래스 I β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드 및/또는 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 상기 이황화 결합에 참여하는 시스테인을 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드와 상기 제3 폴리펩티드는 상기 제1 그리고 상기 제2의 FasL 폴리펩티드에 존재하는 시스테인(또는 치환된)을 통하여 서로 이황화 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG2 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG3 Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgA Fc 폴리펩티드 또는 IgM Fc 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, MHC 클래스 II 폴리펩티드는 상기 MHC 클래스 I 폴리펩티드를 대신하여 이용된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 Fc 폴리펩티드의 C-말단에 에피토프 태그 및/또는 친화력 도메인을 포함한다.

[0190] **폴리단백질 전구물질들**

[0191] 본 발명은 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산

링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드를 제공한다.

[0192] 한 구체예에서, 상기 제1 아미노산은 50개의 아미노산 또는 그 보다 적은 최소 5개의 아미노산의 임의의 아미노산 서열일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제2 아미노산 링커는 70개의 아미노산 또는 그 보다 적은 최소 5개의 아미노산의 임의의 아미노산 서열일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제3 아미노산 링커는 바이러스 2A 펩티드, 또는 공지의 프로테아제 절단 능력을 가진 펩티드 (가령, 비-제한적 구체예들에서, 퓨린 절단 부위, 타바코 예칭 바이러스(타바코 예칭 바이러스) [TEV] 서열, 정밀(Precision) 프로테아제 부위, 또는 트롬빈 프로테아제) 일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제1 아미노산은 GGGGSGGGSGGGGS (서열 번호:1)을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 제2 아미노산 링커는 GGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 번호:2)을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 제3 아미노산 링커는 SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:3)을 포함한다.

[0193] 본 발명은 제1 B2M 리더 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 후보 에피토프 펩티드, 연속하여 제1 아미노산 링커 서열, 연속하여 인간 고유의 B2M 펩티드 서열과 동일한 아미노산 서열, 연속하여 제2 아미노산 링커 서열, 연속하여 제2 B2M 리더 서열, 연속하여 T 세포 조정 도메인 펩티드 서열, 연속하여 제3 아미노산 링커, 연속하여 MHC 중쇄와 동일한 아미노산 서열, 연속하여 면역글로블린 Fc 도메인과 동일한 아미노산 서열이 포함된 재조합 폴리펩티드를 또한 제공한다.

[0194] 링커

[0195] 한 구체예에서, 상기 제1 아미노산은 50개의 아미노산 또는 그 보다 적은 최소 5개의 아미노산의 임의의 아미노산 서열일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제2 아미노산 링커는 70개의 아미노산 또는 그 보다 적은 최소 5개의 아미노산의 임의의 아미노산 서열일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제3 아미노산 링커는 바이러스 2A 펩티드, 또는 공지의 프로테아제 절단 능력을 가진 펩티드 (가령, 비-제한적 구체예들에서, 퓨린 절단 부위, 타바코 예칭 바이러스(타바코 예칭 바이러스) [TEV] 서열, 정밀 프로테아제 부위, 또는 트롬빈 프로테아제)일 수 있다. 한 구체예에서, 상기 제1 아미노산은 GGGGSGGGSGGGGS (서열 번호:1)을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 제2 아미노산 링커는 GGGGSGGGSGGGSGGGGS (서열 번호:2)을 포함한다. 한 구체예에서, 상기 제3 아미노산 링커는 SGSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:3)을 포함한다.

[0196] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 제3 아미노산 링커는 자가-절단성이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 제2 아미노산 링커는 자가-절단성이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 자가-절단 펩티드는 바이러스 2A 펩티드이거나 또는 이의 서열을 갖는다. 한 구체예에서, 상기 바이러스 2A 펩티드는 돼지 테스초바이러스-1 (P2A), 구제역(foot-and-mouth) 질환 바이러스 (F2A), 토세아 아시아나(*Thosesigna*) 바이러스 (T2A), 말 비염 바이러스 (E2A) 또는 바이러스 돼지 테스초바이러스-1 (P2A) 펩티드이거나, 또는 이중 하나의 서열을 갖는다. 대안적으로, 이것은 상기 2A 서열을 완전하게 제거하는 2개의 별개 플라스미드(또는 바이러스)로 전달될 수도 있다.

[0197] 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커는 알라닌 카르복시펩티다제, 아르밀라리아 메레아 아스타신 (*Armillaria mellea astacin*), 박테리아성 류실 아미노펩티다제, 암 응혈원(procoagulant), 카텡신 B, 클로스트리파인, 시토솔 알라닌 아미노펩티다제, 엘라스타제, 엔도프로테나제 Arg-C, 엔테로키나제, 카스트릭신, 겔라티나제, Gly-X 카르복시펩티다제, 글리실 엔도펩티다제, 인간 리노바이러스 3C 프로테아제, 히포테르민 C, IgA-특이적 세린 엔도펩티다제, 류실 아미노펩티다제, 류실 엔도펩티다제, lysC, 리소좀성 프로-X 카르복시펩티다제, 리실 아미노펩티다제, 메티오닐 아미노펩티다제, 믹소박터, 나르디리신, 췌장 엔도펩티다제 E, 피코르나인 2A, 피코르나인 3C, 프로엔도펩티다제, 프로일 아미노펩티다제, 프로단백질 전환효소 I, 프로단백질 전환효소 II, 루셀리신, 사카로펩신, 세메노겔라제, T-플라스미노겐 활성물질, 트롬빈, 조직 칼리크레인, 타바코 예칭 바이러스 (TEV), 토카비린, 트립토포닐 아미노펩티다제, U-플라스미노겐 활성물질, V8, 베놈빈 A, 베놈빈 AB, 및 Xaa-프로 아미노펩티다제로 구성된 군에서 선택된 프로테아제에 의해 인지된 프로테아제 인지 서열을 포함할 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커는 숙주 효소에 의해 인지되는 프로테아제 인지 서열, 가령, 상기 숙주 세포에 의해 자연적으로 생산된 효소를 포함할 수 있다.

[0198] 예를 들면, 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커는 매트릭스 금속단백질분해효소 절단 부위, 가령, 콜라게나제-1, -2, 및 -3 (MMP-1, -8, 및 -13), 겔라티나제 A 및 B (MMP-2 및 -9), 스트로메리신 1, 2, 및 3 (MMP-3, -10, 및 -11), 매트릴리신 (MMP-7), 및 막 금속단백질분해효소 (MT1-MMP 및 MT2-MMP)로 선택된 MMP의 절단

부위를 포함할 수 있다. 예를 들면, MMP-9의 절단 서열은 Pro-X-X-Hy (이때, X는 임의의 잔기를 나타낸다; Hy, 소수성 잔기), 가령, Pro-X-X-Hy-(Ser/Thr), 가령, Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr-Ser (서열 번호:33) 또는 Pro-Leu/Gln-Gly-Met-Thr (서열 번호:21)이다. 프로테아제 절단 부위의 또다른 예는 플라스미노겐 활성화물질 절단 부위, 가령, uPA 또는 조직 플라스미노겐 활성화물질 (tPA) 절단 부위이다. uPA 및 tPA의 절단 서열의 특정 예는 Val-Gly-Arg가 포함된 서열을 포함한다. 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커에 포함될 수 있는 프로테아제 절단 부위의 또다른 예는 타바코 에칭 바이러스 (TEV) 프로테아제 절단 부위, 가령, ENLYTQS (서열 번호:34), 여기에서 상기 프로테아제는 글루타민과 세린 사이를 절단한다. 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커에 포함될 수 있는 프로테아제 절단 부위의 또다른 예는 엔테로키나제 절단 부위, 가령, DDDDK (서열 번호:35), 여기에서 절단은 상기 리신 잔기 다음에서 일어난다. 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커에 포함될 수 있는 프로테아제 절단 부위의 또다른 예는 트롬빈 절단 부위, 가령, LVPR (서열 번호:36)다. 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커에 포함될 수 있는 프로테아제 절단 부위의 또다른 예는 퓨린 절단 부위, 가령, Arg-X-(Arg/Lys)-Arg이며, 여기에서 X는 임의의 아미노산이다. 프로테아제 절단 부위들이 포함된 추가 적합한 링커들은 다음의 아미노산 서열 들중 하나 또는 그 이상이 포함된 링커들을 포함한다: PreScission 프로테아제 (인간 리노바이러스 3C 프로테아제와 글루타민-*S*-전달효소가 포함된 융합 단백질; Walker et al. (1994) *Biotechnol.* 12:601)에 절단된 LEVLFQGP (서열 번호:37); 트롬빈 절단 부위, 가령, CGLVPAGSGP (서열 번호:38); 카텡신 B에 의해 절단된 SLLKSRMPNFN (서열 번호:39) 또는 SLLIARRMPNFN (서열 번호:40); Epstein-Barr 바이러스 프로테아제에 의해 절단된 SKLVQASASGVN (서열 번호:41) 또는 SSYLKASDAPDN (서열 번호:42); MMP-3 (스트로메리신)에 의해 절단된 RPKPQQFFGLMN (서열 번호:43); MMP-7 (매트릴리신)에 의해 절단된 SLRPLALWRSFN (서열 번호:44); MMP-9에 의해 절단된 SPQGIAGQRNFN (서열 번호:45); 테르모리신-유사 MMP에 의해 절단된 DVDERDVRGFASFL 서열 번호:46); 매트릭스 금속단백질분해효소 2(MMP-2)에 의해 절단된 SLPLGLWAPNFN (서열 번호:47); 카텡신 L 에 의해 절단된 SLLIFRSWANFN (서열 번호:48); 카텡신 D에 의해 절단된 SGVVIATVIVIT (서열 번호:49); 매트릭스 금속단백질분해효소 1(MMP-1)에 의해 절단된 SLGPQGIWQFN (서열 번호:50); 우로키나제-유형 플라스미노겐 활성화물질에 의해 절단된 KKSQPRVVGGSV (서열 번호:51); 막 유형 1 매트릭스금속단백질분해효소 (MT-MMP)에 의해 절단된 PQLLGAPGILG (서열 번호:52); 스트로메리신 3 (또는 MMP-11), 테르모리신, 섬유모세포 콜라게나제 및 스트로메리신-1에 의해 절단된 HGPEGLRVGFYESDVMGRGHARLVHVEEPHT (서열 번호:53); 매트릭스 금속단백질분해효소 13 (콜라게나제-3)에 의해 절단된 GPOGLAGQRGIV (서열 번호:54); 조직-유형 플라스미노겐 활성화물질(tPA)에 의해 절단된 GSGQGRGRKALE (서열 번호:55); 인간 전립선-특이적 항원에 의해 절단된 SLSALLSSDIFN (서열 번호:56); 칼리크레인 (hK3)에 의해 절단된 SLPRFKIIGGFN (서열 번호:57); 호중구 엘라스타제에 의해 절단된 SLLGIAPGNFN (서열 번호:58); 그리고 칼파인 (칼슘 활성화된 중립 프로테아제)에 의해 절단된 FFKNIVTPRTPP (서열 번호:59). 적합한 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커들의 추가 예는 다음을 포함한다: 1) ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:60); 2) EGRGSLTCDGVEENPGP (서열 번호:61); 3) QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:62); 그리고 4) VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:63). 적합한 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커들의 추가 예는 다음을 포함한다: 1) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64); 2) GSGEGRGSLTCDGVEENPGP (서열 번호:65); 3) GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:66); 그리고 4) GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:67).

[0199] 적합한 링커들의 예로는 2A 링커 (예를 들면 T2A), 2A-유사 링커 또는 이의 기능적 등가체 및 이의 조합을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 링커는 피코르나바이러스 2A-유사 링커, 돼지 테스초바이러스 (P2A)의 CHYSEL 서열, 토세아 아시그나(*Thosea asigna*) 바이러스 (T2A), 그리고 이의 조합, 변이체들, 및 기능적 등가체를 포함한다. 다른 구체예들에 있어서, 상기 링커 서열은 Asp-Val/Ile-Glu-X-Asn-Pro-Gly^{2A}-Pro^{2B} 모티프를 포함할 수 있으며, 이는 2A 글리신과 2B 프롤린 사이에 절단을 초래한다. 본 명세서의 목적을 위하여, P2A (GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64)), T2A (GSGEGRGSLTCDGVEENPGP (서열 번호:65)), E2A (GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:66)), 및 F2A (GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:67))은 " 단백질분해성 절단 부위(proteolytic cleavage sites) " 또는 " 리보솜 스킵핑 신호(ribosome skipping signals) " (CHYSEL)로 간주될 수 있다. 가령, Kim et al. (2011) *PLoS ONE* 6:e18556 참고. 인코딩된 폴리펩티드들이 2개의 폴리펩티드 쇄로 생성되는 기전은 상기 링커의 자가 절단에 의해, 리보솜 스킵핑, 또는 해독 단락(shunting)에 의한 것일 수 있다. 기전과 관계없이, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 최소한 2개의 폴리펩티드 쇄들은 P2A, T2A, E2A, 또는 F2A 서열을 이용하여 만들어질 수 있다. 적합한 링커들은 아미노산 서열, 이를 테면 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64), GSGEGRGSLTCDGVEENPGP (서열 번호:65), GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:66), GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:67), 또는 서열 번호:64-67에서 제시된 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 5개의 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 (가령, 서열 번호:64-67에서 제시된 아미노산

서열과 비교하여 1 내지 5개 연속 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열)이 포함된 폴리펩티드를 포함한다. 적합한 링커들은 아미노산 서열, 이를 테면 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64), GSGEGRGSLLTCDGVEENPGP (서열 번호:65), GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호:66), GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호:67), 또는 서열 번호:64-67에서 제시된 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 10개의 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열 (가령, 서열 번호:64-67에서 제시된 아미노산 서열과 비교하여 1 내지 10개 연속 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열)이 포함된 폴리펩티드를 포함한다.

[0200] 에피토프

[0201] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 후보 에피토프는 7-20개의 아미노산을 포함한다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 에피토프 펩티드는 MHC 클래스 I을 위한 5-20개의 아미노산이다. 한 구체예에서, 상기 에피토프 펩티드는 MHC 클래스 I을 위한 8-11개의 아미노산이다. 한 구체예에서, 상기 에피토프 펩티드는 MHC 클래스 II을 위한 5-40개의 아미노산이다. 한 구체예에서, 상기 에피토프 펩티드는 MHC 클래스 II를 위한 13-17개의 아미노산이다. 한 구체예에서, 상기 에피토프 펩티드는 임의의 자연 발생적 또는 돌연변이체 인간 서열, 또는 임의의 병원체-유도된 서열이다.

[0202] MHC 폴리펩티드

[0203] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 제1 및/또는 제2 B2M 리더 서열은 인간 B2M 리더 서열의 서열을 갖는다.

[0204] 일부 경우들에 있어서, 리더 펩티드는 다음의 인간 B2M 리더 서열에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다: MSRSVALAVLALLSLSGLEA (서열 번호:68).

[0205] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서에서 설명된 B2M 리더 서열은 가령, 인간 B2M 리더 서열, 영장류 B2M 리더 서열, 설치류 B2M 리더 서열, 및 이와 유사한 것이 포함되나, 이에 국한되지 않는 포유류 B2M 리더 서열일 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서에서 설명된 B2M 리더는 도 20에서 나타낸 B2M 리더 서열들중 하나와 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0206] 한 구체예에서, 상기 B2M은 다음 서열을 포함한다:

[0207] IQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWFSFYLLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSPKIVKWRDM (서열 번호:4).

[0208] 일부 경우들에 있어서, B2M 폴리펩티드는 도 20에 나타낸 B2M 아미노산 서열에 대하여 최소한 75%, 최소한 80%, 최소한 85%, 최소한 90%, 최소한 95%, 최소한 98%, 최소한 99%, 또는 100%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0209] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 MHC 중쇄는 인간 MHC 중쇄다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 MHC 중쇄는 MHC I 분자다. 예시적인 MHC I 중쇄는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K 및 HLA-L의 알파 쇠를 포함한다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 MHC 중쇄는 HLA-A02:01이다. 한 구체예에서, 상기 HLA는 HLA-A02이다. 한 구체예에서, 상기 HLA-A02는 다음 서열을 포함한다:

[0210] GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRI AVGYVDDTQFVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRQVKAHSQTHRVDLGLTRGYNQSEAGSHTVQRMYGCD VGSDWRFLRGYHYAYDGDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCA ALSFYPAEITLWQRDGEDTQDTELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPI (서열 번호:5).

[0211] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 MHC 중쇄는 MHC II 분자다. 예시적인 MHC II 중쇄들은 HLA-D의 것들을 포함한다.

[0212] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 재조합 폴리펩티드는 B2M 펩티드 서열과 중쇄 서열 사이에 이황화 결합에 영향을 주기 위하여, 인간 고유의 B2M 펩티드 및 이의 중쇄 서열 안에 돌연변이를 더 포함한다.

[0213] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 재조합 폴리펩티드 상기 중쇄 서열은 다음 잔기 쌍중 하나의 HLA 및 이황화 결합 연개다:

[0214] B2M 잔기 12, HLA 잔기 236;

- [0215] B2M 잔기 12, HLA 잔기 237;
- [0216] B2M 잔기 8, HLA 잔기 234;
- [0217] B2M 잔기 10, HLA 잔기 235;
- [0218] B2M 잔기 24, HLA 잔기 236;
- [0219] B2M 잔기 28, HLA 잔기 232;
- [0220] B2M 잔기 98, HLA 잔기 192;
- [0221] B2M 잔기 99, HLA 잔기 234;
- [0222] B2M 잔기 3, HLA 잔기 120;
- [0223] B2M 잔기 31, HLA 잔기 96;
- [0224] B2M 잔기 53, HLA 잔기 35;
- [0225] B2M 잔기 60, HLA 잔기 96;
- [0226] B2M 잔기 60, HLA 잔기 122;
- [0227] B2M 잔기 63, HLA 잔기 27;
- [0228] B2M 잔기 Arg3, HLA 잔기 Gly120;
- [0229] B2M 잔기 His31, HLA 잔기 Gln96;
- [0230] B2M 잔기 Asp53, HLA 잔기 Arg35;
- [0231] B2M 잔기 Trp60, HLA 잔기 Gln96;
- [0232] B2M 잔기 Trp60, HLA 잔기 Asp122;
- [0233] B2M 잔기 Tyr63, HLA 잔기 Tyr27;
- [0234] B2M 잔기 Lys6, HLA 잔기 Glu232;
- [0235] B2M 잔기 Gln8, HLA 잔기 Arg234;
- [0236] B2M 잔기 Tyr10, HLA 잔기 Pro235;
- [0237] B2M 잔기 Ser11, HLA 잔기 Gln242;
- [0238] B2M 잔기 Asn24, HLA 잔기 Ala236;
- [0239] B2M 잔기 Ser28, HLA 잔기 Glu232;
- [0240] B2M 잔기 Asp98, HLA 잔기 His192; 그리고
- [0241] B2M 잔기 Met99, HLA 잔기 Arg234
- [0242] (B2M 및 HLA 서열의 경우 서열 번호: 4 및 5 참고).
- [0243] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 중쇄 서열은 HLA이며, 이때 상기 이황화 결합은 다음의 잔기 쌍 중 하나를 연계한다:
- [0244] 제1 링커 위치 Gly 2, 중쇄 (HLA) 위치 Tyr 84;
- [0245] 경쇄 (B2M) 위치 Arg 12, HLA Ala236; 및/또는
- [0246] B2M 잔기 Arg12, HLA 잔기 Gly237.
- [0247] Fc 폴리펩티드
- [0248] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG Fc 도메인이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgA Fc 도메인이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgM Fc 도메인이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상

기 면역글로블린 Fc 도메인은 인간 면역글로블린 Fc 도메인이다. 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 면역글로블린 Fc 도메인은 IgG1 Fc 도메인이다.

[0249] 면역조정 폴리펩티드

[0250] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 T 세포 조정 도메인은 저해 도메인이다.

[0251] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 T 세포 조정 도메인은 자극 도메인이다.

[0252] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 T 세포 조정 도메인은 항체, 및 항체 단편, 펩티드 리간드, T 세포 상호자극적 펩티드, 사이토킨 또는 독소다.

[0253] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 상기 T 세포 조정 도메인은 PD-L1 펩티드, PD-L1 펩티드의 Ig 가변 도메인을 포함하고, 상기 T 세포 조정 도메인은 4-1BBL를 포함하고, 상기 T 세포 조정 도메인은 B7-1W88A를 포함하고, 또는 상기 T 세포 조정 도메인은 항-CD28 단일쇄 Fv를 포함한다.

[0254] 더욱이 본 발명에서 이용될 수 있는 T 세포 조정 도메인들 (MODs)은 자연 발생적 또는 합성 인간 유전자 산물 (단백질), 전통적인 그리고 비-전통적인 (가령, FGF2, IL1, S100A4) 분비 기전으로부터 발생하는 모든 분비된 단백질, 그리고 자연 발생적 유전적으로 인코딩된 단백질 세그먼트 (단일 또는 다중 막 범위)에 의해 고정된 모든 세포 표면 단백질의 엑토-도메인들 또는 해독-후 변형 이를 테면 GPI 연계)가 포함되나, 이에 국한되지 않는 인간 유전자 산물을 표적화하는 친화력 시약 (가령, 항체, 항체 단편, 단일쇄 Fvs, 압타머, 나노바디)을 포함한다. 임의의 자연 발생적 또는 합성 친화력 시약 (가령, 항체, 항체 단편, 단일쇄 Fvs, 압타머, 나노바디, 렉틴 등)은 세포 표면 글리칸 또는 다른 해독-후 변형 (가령, 황산화)을 표적으로 한다. 예로는 상기 TNF/TNFR 패밀리의 구성요소들 (OX40L, ICOSL, FASL, LTA, LTB TRAIL, CD153, TNFSF9, RANKL, TWEAK, TNFSF13, TNFSF13b, TNFSF14, TNFSF15, TNFSF18, CD40LG, CD70) 또는 상기 TNF/TNFR 패밀리를 지향하는 친화력 시약; 상기 면역글로블린 슈퍼패밀리의 구성요소들 (VISTA, PD1, PD-L1, PD-L2, B71, B72, CTLA4, CD28, TIM3, CD4, CD8, CD19, T 세포 수용체쇄, ICOS, ICOS 리간드, HHLA2, 부티로필린(butyrophilins), BTLA, B7-H3, B7-H4, CD3, CD79a, CD79b, IgSF CAMS (CD2, CD58, CD48, CD150, CD229, CD244, ICAM-1 포함), 백혈구 면역글로블린 유사 수용체들 (LILR), 킬러 세포 면역글로블린 유사 수용체들 (KIR)), 렉틴 슈퍼패밀리 구성요소들, 셀렉틴, 사이토킨/케모킨 및 사이토킨/케모킨 수용체들, 성장 인자들 그리고 성장 인자 수용체들), 흡착 분자들 (인테그린, 피브로넥틴, 캐드헤린), 또는 다중-스핀테그랄(multi-spintegral) 막 단백질의 엑토-도메인들, 또는 상기 면역글로블린 슈퍼패밀리를 지향하는 친화력 시약, 그리고 열거된 유전자 산물을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 또한, 이들 유전자 산물의 활성 상동체/오르소로그(orthologs)는 바이러스 서열 (가령, CMV, EBV), 박테리아 서열, 곰팡이 서열, 진핵 병원체들 (가령, 슈스토조마(*Schistosoma*), 플라스모디움(*Plasmodium*), 바베시아(*Babesia*), 에이메리아(*Eimeria*), 테이레리아(*Theileria*), 톡소플라스마(*Toxoplasma*), 엔타모에바(*Entamoeba*), 레이쉬마니아(*Leishmania*), 및 트리파노소마(*Trypanosoma*)), 그리고 포유류 -유도된 코딩 영역들을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 또한, MOD는 인간 유전자 산물을 표적으로 하는 작은 분자들을 포함할 수 있다.

[0255] 추가 폴리펩티드

[0256] 상기 재조합 폴리펩티드의 한 구체예에서, 이들은 His-8 태그(tag), 연속하여 이의 C-말단을 더 포함한다.

[0257] **핵산**

[0258] 본 명세서에서 설명된 상기 재조합 폴리펩티드중 임의의 인코딩하는 핵산이 제공된다. 한 구체예에서, 상기 핵산은 DNA이다. 한 구체예에서, 상기 핵산은 cDNA이다. 한 구체예에서, 상기 핵산은 RNA이다. 한 구체예에서, 상기 핵산은 mRNA이다.

[0259] 한 구체예에서, 상기 재조합 핵산은 벡터다. 한 구체예에서, 상기 벡터는 바이러스 벡터다. 한 구체예에서, 상기 바이러스 벡터는 렌티바이러스 벡터다.

[0260] 본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 개별 폴리펩티드쇄는 별개의 핵산에서 인코딩된다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 모든 폴리펩티드쇄는 단일 핵산에 인코딩된다. 일부 경우들에 있어서, 제1 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고; 그리고 제2 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드를 인코딩된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 단일 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드와 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 핵산은 상

기에서 설명된 바와 같이 폴리단백질 전구물질이 인코딩된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0261] **다량체 폴리펩티드의 개별 폴리펩티드 쇄를 인코딩하는 별개 핵산들**

[0262] 본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공한다. 상기에서 명시된 바와 같이, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 개별 폴리펩티드 쇄들은 별개의 핵산에서 인코딩된다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 별개 폴리펩티드 쇄들이 인코딩된 뉴클레오티드 서열들은 전사조절 요소, 가령, 프로모터, 이를 태면 진핵 세포 안에서 기능을 하는 프로모터에 작동가능하도록 연계되며, 여기에서 상기 프로모터는 구성 프로모터 또는 유도성 프로모터일 수 있다.

[0263] 본 명세서는 제1 핵산 및 제2 핵산을 제공하며, 여기에서 상기 제1 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기에서 상기 제1 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프 (가령, T-세포 에피토프); b) 제1 MHC 폴리펩티드; 그리고 c) 면역조정 폴리펩티드를 포함하며; 그리고 여기에서 상기 제2 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드를 포함하며, 여기에서 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 b) Ig Fc 폴리펩티드를 포함한다. 적합한 T-세포 에피토프, MHC 폴리펩티드, 면역조정 폴리펩티드, 및 Ig Fc 폴리펩티드들은 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 전사조절 요소에 작동가능하도록 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 전사 조절 요소는 진핵 세포에서 기능을 하는 프로모터다. 일부 경우들에 있어서, 상기 핵산들은 별개의 발현 벡터들 안에 존재한다.

[0264] 본 명세서는 제1 핵산 및 제2 핵산을 제공하며, 여기에서 상기 제1 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기에서 상기 제1 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프 (가령, T-세포 에피토프); 그리고 b) 제1 MHC 폴리펩티드; 그리고 c) 면역조정 폴리펩티드를 포함하며; 그리고 여기에서 상기 제2 핵산은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드를 포함하며, 여기에서 상기 제2 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 면역조정 폴리펩티드; b) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 c) Ig Fc 폴리펩티드를 포함한다. 적합한 T-세포 에피토프, MHC 폴리펩티드, 면역조정 폴리펩티드, 및 Ig Fc 폴리펩티드들은 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 그리고 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 전사조절 요소에 작동가능하도록 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 전사 조절 요소는 진핵 세포에서 기능을 하는 프로모터다. 일부 경우들에 있어서, 상기 핵산들은 별개의 발현 벡터들 안에 존재한다.

[0265] **다량체 폴리펩티드 안에 존재하는 2개 또는 그 이상의 폴리펩티드를 인코딩하는 핵산**

[0266] 본 명세서는 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 최소한 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 여기에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 제1, 제2, 및 제3 폴리펩티드를 포함하며, 상기 핵산은 상기 제1, 제2, 및 제3 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드는 상기 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열과 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 끼어있는 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드는 상기 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 그리고 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 끼어있는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드는 상기 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 그리고 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 사이에 끼어있는 리보솜 스킵핑 신호 (또는 *cis*-작용 가수분해효소 요소, CHYSEL)를 포함한다. 핵산들의 예는 하기에서 설명되며, 이들 구체예들중 임의의 것에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 상기 제1 폴리펩티드과 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 사이에 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커가 제공되며, RES 또는 리보솜 스킵핑 신호는 상기 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 대신하여 이용될 수 있다.

[0267] 일부 경우들에 있어서, 제1 핵산 (가령, 제조합 발현 벡터, mRNA, 바이러스 RNA, 등)은 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드 쇄를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 그리고 제2 핵산 (가령, 제조합 발현 벡터, mRNA, 바이러스 RNA, 등)은 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드 쇄를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드

서열, 그리고 상기 상기 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 제2 뉴클레오티드 서열은 각각 전사조절 요소, 가령, 프로모터, 이를 테면 진핵 세포 안에서 기능을 하는 프로모터에 작동가능하도록 연계되며, 여기에서 상기 프로모터는 구성 프로모터 또는 유도성 프로모터일 수 있다.

[0268] 본 명세서는 재조합 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공하며, 여기에서 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프 (가령, T-세포 에피토프); b) 제1 MHC 폴리펩티드; c) 면역조정 폴리펩티드; d) 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커; e) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 f) 면역글로블린 (Ig) Fc 폴리펩티드를 포함한다. 본 명세서는 재조합 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공하는데, 여기에서 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 제1 리더 펩티드; b) 상기 에피토프; c) 상기 제1 MHC 폴리펩티드; d) 상기 면역조정 폴리펩티드; e) 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커; f) 제2 리더 펩티드; g) 상기 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 h) 상기 Ig Fc 폴리펩티드를 포함한다. 본 명세서는 재조합 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 핵산을 제공하는데, 여기에서 상기 재조합 폴리펩티드는 N-말단에서부터 C-말단 방향의 순서로 a) 에피토프; b) 제1 MHC 폴리펩티드; c) 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커; d) 면역조정 폴리펩티드; e) 제2 MHC 폴리펩티드; 그리고 f) Ig Fc 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 리더 펩티드 그리고 상기 제2 리더 펩티드는 β 2-M 리더 펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 뉴클레오티드 서열은 전사조절 요소에 작동가능하도록 연계된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 전사 조절 요소는 진핵 세포에서 기능을 하는 프로모터다.

[0269] 적합한 MHC 폴리펩티드는 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 β 2-마이크로글로블린 폴리펩티드는 서열 번호:4에 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G, HLA-K, 또는 HLA-L 중쇄다. 일부 경우들에 있어서, 상기 MHC 클래스 I 중쇄 폴리펩티드는 서열 번호:5에서 제시된 아미노산 서열에 대하여 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 제1 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 알파 쇠 폴리펩티드이며; 그리고 이때 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 MHC 클래스 II 베타 쇠 폴리펩티드이다.

[0270] 적합한 Fc 폴리펩티드는 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 IgG1 Fc 폴리펩티드, IgG2 Fc 폴리펩티드, IgG3 Fc 폴리펩티드, IgG4 Fc 폴리펩티드, IgA Fc 폴리펩티드, 또는 IgM Fc 폴리펩티드다. 일부 경우들에 있어서, 상기 Ig Fc 폴리펩티드는 도 24a-24c에 나타난 아미노산 서열에 최소한 85% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0271] 적합한 면역조정 폴리펩티드는 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 4-1BBL 폴리펩티드, B7-1 폴리펩티드; B7-2 폴리펩티드, ICOS-L 폴리펩티드, OX-40L 폴리펩티드, CD80 폴리펩티드, CD86 폴리펩티드, PD-L1 폴리펩티드, FasL 폴리펩티드, 및 PD-L2 폴리펩티드로부터 선택된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 CD7, CD30L, CD40, CD70, CD83, HLA-G, MICA, MICB, HVEM, 림프독소 베타 수용체, 3/TR6, ILT3, ILT4, 및 HVEM으로부터 선택된다.

[0272] 적합한 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커들은 상기에서 설명된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 단백질분해로 인하여 절단가능한 링커는 a) LEVLFQGP (서열 번호:37); b) ENLYTQS (서열 번호:34); c) DDDDK (서열 번호:35); d) LVPR (서열 번호:36); 그리고 e) GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호:64)로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.

[0273] 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프와 상기 제1 MHC 폴리펩티드 사이의 링커는 제1 Cys 잔기를 포함하며, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 제2 Cys 잔기를 제공하기 위하여 아미노산 치환을 포함하여, 상기 링커와 상기 제2 MHC 폴리펩티드 사이에 이황화 연계를 위하여 제1 및 제2 Cys 잔기가 제공된다. 일부 경우들에 있어서, 제1 MHC 폴리펩티드는 제1 Cys 잔기를 제공하기 위한 아미노산 치환을 포함하며, 상기 제2 MHC 폴리펩티드는 제2 Cys 잔기를 제공하기 위한 아미노산 치환을 포함하며, 상기 제1 MHC 폴리펩티드와 상기 제2 MHC 폴리펩티드 사이에 이황화 연계를 위하여 제1 Cys 잔기 및 제2 Cys 잔기가 제공된다.

[0274] **재조합 발현 벡터들**

[0275] 본 명세서는 본 명세서의 핵산들이 포함된 재조합 발현 벡터들을 제공한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 재조합 발현 벡터는 비-바이러스 벡터다. 일부 구체예들에 있어서, 상기 재조합 발현 벡터는 바이러스 구조체, 가령, 재조합 아데노-연합된 바이러스 구조체 (가령, U.S. 특허 번호 7,078,387 참고), 재조합 아데노바이러스

구조체, 재조합 렌티바이러스 구조체, 재조합 레트로바이러스 구조체, 비-통합 바이러스 벡터, 등이다.

- [0276] 적합한 발현 벡터들은 바이러스 벡터들 (가령 우두종 바이러스; 폴리오바이러스; 아데노바이러스에 기반을 둔 바이러스성 벡터들 (가령, Li et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 35:2543 2549, 1994; Borrás et al., Gene Ther 6:515 524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700 7704, 1995; Sakamoto et al., H Gene Ther 5:1088 1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655 참고); 아데노-연합된 바이러스 (가령, Ali et al., Hum Gene Ther 9:81 86, 1998, Flannery et al., PNAS 94:6916 6921, 1997; Bennett et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 38:2857 2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4:683 690, 1997, Rolling et al., Hum Gene Ther 10:641 648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5:591 594, 1996; Srivastava- WO 93/09239, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63:3822-3828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154-165; 그리고 Flotte et al., PNAS (1993) 90:10613-10617); SV40; 단순 헤르페스 바이러스; 인간 면역 결핍 바이러스 (가령, Miyoshi et al., PNAS 94:10319 23, 1997; Takahashi et al., J Virol 73:7812 7816, 1999)); 레트로바이러스 벡터 (가령, 뮤린 백혈병 바이러스, 비장 괴사 바이러스, 및 레트로바이러스, 이를 테면 라우스 육종 바이러스, 하르베이(Harvey) 육종 바이러스, 조류 백혈병 바이러스, 렌티바이러스, 인간 면역결핍 바이러스, 골증식성 육종 바이러스, 및 포유류 종양 바이러스로부터 유도된 벡터들); 그리고 이와 유사한 것들이 포함되나, 이에 국한되지 않는다.
- [0277] 다수의 적합한 발현 벡터들이 당업자들에게 공지되어 있으며, 많은 것들이 시판되고 있다. 예로써 다음의 벡터들이 제공된다; 진핵 숙주 세포용: pXT1, pSG5 (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG, 및 pSVLSV40 (Pharmacia). 그러나, 상기 숙주 세포와 양립가능하다면 임의의 다른 벡터들이 이용될 수 있다.
- [0278] 이용되는 숙주/벡터 시스템에 따라, 구성 프로모터 및 유도성 프로모터들, 전사 인핸서 요소들, 전사 종료물질, 등이 포함된 적합한 다수의 전사 및 해독 조절 요소들중 임의의 것들이 발현 벡터에서 이용될 수 있다 (가령, Bitter et al. (1987) *Methods in Enzymology*, 153:516-544 참고).
- [0279] 일부 구체예들에 있어서, DNA-표적화 RNA 및/또는 부위-지향된 변형 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 조절 요소, 가령, 전사 조절 요소, 이를 테면 프로모터에 작동가능하도록 연계된다. 상기 전사 조절 요소는 진핵 세포, 가령, 포유류 세포; 또는 원핵 세포 (가령, 박테리아성 또는 고세균 세포)에서 기능을 할 수 있다. 일부 구체예들에 있어서, DNA-표적화 RNA 및/또는 부위-지향된 변형 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 원핵 세포 및 진핵 세포 모두에서 DNA-표적화 RNA 및/또는 부위-지향된 변형 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열의 발현을 허용하는 다중 조절 요소들에게 작동가능하도록 연계된다.
- [0280] 적합한 진핵 프로모터의 비-제한적인 실시예 (진핵 세포에서 기능을 하는 프로모터)는 사이토메갈로바이러스 (CMV) 즉각 초기(immediate early), 단순 헤르페스 바이러스 (HSV) 티미딘 키나제, 초기 및 후기(early and late) SV40, 레트로바이러스의 긴 말단 반복부 (LTRs), 그리고 마우스 메탈로티오닌-I의 것들을 포함한다. 적절한 벡터 및 프로모터의 선별은 당업자의 평균적 수준 범위 안에 있다. 상기 발현 벡터는 해독 개시 및 전사 종료를 위한 리보솜 결합 부위를 또한 포함할 수 있다. 상기 발현 벡터는 발현을 증폭시키기 위한 적절한 서열들을 또한 포함할 수 있다.
- [0281] **유전적으로 변형된 숙주 세포**
- [0282] 본 명세서에서 설명된 재조합 폴리펩티드중 임의의 것을 인코딩하는 핵산으로 형질변환된 세포가 제공된다. 상기 재조합 폴리펩티드중 임의의 것을 인코딩하는 핵산으로 형질변환되는 세포의 예로는 인간 배아 간 (HEK) 세포 포함되나 이에 국한되지 않은 단리된 포유류 세포, 중국 햄스터 난소 (CHO), NSO (뮤린 골수종) 세포, 인간 양수세포 (CAP, CAP-T), 효모 세포(*S. 세르비시에(S. cerevisiae)*, 피치아 파스토리스(*Pichia pastoris*)가 포함되나 이에 국한되지 않음), 식물 세포 (타바코 NT1, BY-2가 포함되나, 이에 국한되지 않음), 곤충 세포 (SF9, S2, SF21, Tni (가령, High 5)가 포함되나 이에 국한되지 않음) 또는 박테리아성 세포 (대장균(*E. coli*))이 포함되나, 이에 국한되지 않음)를 포함한다.
- [0283] 본 명세서는 유전적으로 변형된 숙주 세포를 제공하며, 여기에서 상기 숙주 세포는 본 명세서의 핵산으로 유전적으로 변형된다.
- [0284] 적합한 숙주 세포는 진핵 세포, 이를 테면 효모 세포, 곤충 세포, 및 포유류 세포를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 숙주 세포는 포유류 세포 계통의 세포다. 적합한 포유류 세포 계통은 인간 세포 계통, 비-인간 영장류 세포 계통, 설치류 (가령, 마우스, 랫) 세포 계통, 및 이와 유사한 것을 포함한다. 적합한 포유류 세포 계통은 HeLa 세포 (가령, American Type Culture Collection (ATCC) 번호 CCL-2), CHO 세포 (가령, ATCC 번호.

CRL9618, CCL61, CRL9096), 293 세포 (가령, ATCC 번호. CRL-1573), Vero 세포, NIH 3T3 세포 (가령, ATCC 번호. CRL-1658), Huh-7 세포, BHK 세포 (가령, ATCC 번호. CCL10), PC12 세포 (ATCC 번호. CRL1721), COS 세포, COS-7 세포 (ATCC 번호. CRL1651), RAT1 세포, 마우스 L 세포 (ATCC 번호. CCLI.3), 인간 배아 신장 (HEK) 세포 (ATCC 번호. CRL1573), HLHepG2 세포, 및 이와 유사한 것을 포함하나, 이에 국한되지 않는다.

[0285] 일부 경우들에 있어서, 상기 숙주 세포는 유전적으로 변형되어, 내생성 MHC β 2-M을 합성하지 않는 포유류 세포다.

[0286] **다량체 폴리펩티드를 생산하는 방법들**

[0287] 본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 생산하는 방법들을 제공한다. 상기 방법들은 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 제조할 발현 벡터에 의해 유전적으로 변형된 숙주 세포를 배양 배지에서 배양하고; 그리고 상기 유전적으로 변형된 숙주 세포 및/또는 상기 배양 배지로부터 상기 다량체 폴리펩티드를 단리시키는 것과 일반적으로 관련된다. 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 제조할 발현 벡터에 의해 유전적으로 변형된 숙주 세포는 또한 "발현 숙주"로도 불린다. 상기에서 명시된 바와 같이, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 개별 폴리펩티드 쇄들은 별개의 제조할 발현 벡터들에서 인코딩된다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 모든 폴리펩티드 쇄는 단일 제조할 발현 벡터안에 인코딩된다.

[0288] 상기 발현 숙주 세포 (가령, 발현 숙주 세포의 용해물로부터) 및/또는 상기 숙주 세포가 배양된 배양 배지로부터 상기 다량체 폴리펩티드의 단리는 단백질 정제의 표준 방법들을 이용하여 실행될 수 있다.

[0289] 예를 들면, 상기 발현 숙주의 용해물이 준비될 수 있고, 이 용해물은 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC), 압출 크로마토그래피, 겔 전기영동, 친화력 크로마토그래피, 또는 다른 정제 기술을 이용하여 정제된다. 대안적으로, 여기에서 발현 숙주 세포로부터 상기 다량체 폴리펩티드는 배양 배지로 배출되며, 상기 다량체 폴리펩티드는 HPLC, 압출 크로마토그래피, 겔 전기영동, 친화력 크로마토그래피, 또는 다른 정제 기술을 이용하여 배양 배지로부터 정제될 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 이용되는 조성물은 산물의 제조 방법 및 이의 정제 방법과 관련하여 오염물질에 비교하여 최소한 80% 중량비의 바람직한 산물, 최소한 약 85% 중량비, 최소한 약 95% 중량비, 또는 최소한 약 99.5% 중량비의 바람직한 산물을 포함할 것이다. 백분율은 총 단백질에 기초될 수 있다.

[0290] 일부 경우들에 있어서, 가령, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 친화력 태그(tag)를 포함하고, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 친화력 태그(tag)의 고정된 결합 짝을 이용하여 정제될 수 있다.

[0291] **조성물**

[0292] 본 명세서는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 포함된 약학 조성물이 포함된 조성물을 제공한다. 본 명세서는 본 명세서의 핵산 또는 본 명세서의 제조할 발현 벡터를 포함하는 약학 조성물이 포함된, 조성물을 제공한다.

[0293] **다량체 폴리펩티드를 포함하는 조성물.**

[0294] 본 명세서의 조성물은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드에 추가하여, 다음중 하나 또는 그 이상을 포함할 수 있다: 염, 가령, NaCl, MgCl, KCl, MgSO₄, 등; 완충 물질, 가령, Tris 완충액, N-(2-히드록시에틸)피페라진-N'-(2-에탄술폰산) (HEPES), 2-(N-몰포리노)에탄술폰산 (MES), 2-(N-몰포리노)에탄술폰산 나트륨 염 (MES), 3-(N-몰포리노)프로판술폰산 (MOPS), N-트리스[히드록시메틸]메틸-3-아미노프로판술폰산 (TAPS), 등; 가용화 물질; 계면활성제, 가령, 비-이온성 계면활성제 이를 테면 Tween-20, 등; 프로테아제 저해제; 글리세롤; 그리고 이와 유사한 것들.

[0295] 상기 조성물은 약학적으로 수용가능한 부형제, 당분야에 공지된 다양한 것들을 포함할 수 있고, 본 명세서에서 논의할 필요는 없다. 약학적으로 수용가능한 부형제들은 예를 들면, "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19th Ed. (1995), 또는 최근 판, Mack Publishing Co; A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H.C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 및 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A.H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc이 포함된 다양한 공개물에서 충분히 설명되었다.

[0296] 약학 조성물은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 그리고 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 일부

경우들에 있어서, 주제의 약학 조성물은 대상에게 투여하기에 적합할 것이며, 가령, 멸균일 것이다. 예를 들면, 일부 구체예들에 있어서, 주제의 약학 조성물은 가령, 인간 대상에게 투여하기에 적합할 것이며, 가령, 여기에서 조성물은 멸균이며, 탐지가능한 발열원 및/또는 다른 독소가 없다.

[0297] 상기 단백질 조성물은 다른 성분들, 이를 테면 약학 등급의 만니톨, 락토즈, 전분, 스테아레이트 마그네슘, 사카린 나트륨, 활석, 셀룰로오스, 포도당, 슈크로스, 탄산 마그네슘, 및 이와 유사한 것을 포함할 수 있다. 상기 조성물은 적절한 생리학적 조건에 요구되는 약학적으로 수용가능한 보조 물질들, 이를 테면 pH 조정 및 완충 물질들, 독성 조정 물질들 및 이와 유사한 것, 예를 들면, 아세트산 나트륨, 염화 나트륨, 염화 칼륨, 염화 칼슘, 젖산 나트륨, 염산염, 황산염, 용매화합물 (가령, 혼합된 이온 염, 물, 유기물), 수화물 (가령, 물), 및 이와 유사한 것을 포함할 수 있다.

[0298] 예를 들면, 조성물은 수성 용액, 분말 형태, 과립, 테블릿, 알약, 좌약, 캡슐, 현탁액, 시럽, 및 이와 유사한 것을 포함할 수 있다. 상기 조성물은 하기에서 설명된 다양한 투여 경로에 따라 제형화될 수 있다.

[0299] 여기에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 조직에 직접 주사가능하도록(가령, 피하, 복막내 및/또는 정맥내) 투여될 때, 제형(formulation)은 즉시 사용가능한 투약형(ready-to-use dosage form), 또는 비-수성 형태 (가령, 재구성가능한 보관-안정적 분말) 또는 수성 형태, 이를 테면 약학적으로 수용가능한 운반체 및 부형제들을 포함하는 액체로 제공될 수 있다. 상기 단백질-함유 제형들은 또한 투여 후 해당 단백질의 혈청 반감기를 강화시키기 위하여 제공될 수 있다. 예를 들면, 상기 단백질은 리포솜 제형 안에 제공되거나, 혈청 반감기를 연장시키기 위하여 콜로이드로 준비되거나 다른 통상적인 기술로 준비될 수 있다. 가령, Szoka et al. 1980 *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9:467, U.S. 특허 번호 4,235,871, 4,501,728 및 4,837,028에서 설명된 것과 같이, 리포솜을 만들기 위한 다양한 방법들이 이용가능하다. 조제물은 조절된 방출 또는 서방출 형태로 또한 제공될 수 있다.

[0300] 장관의 투여에 적합한 제형의 다른 예들은 등장성 멸균 주사용액, 항-산화제, 정균제 및 의도된 수령자의 혈액과 등장성인 제형을 제공하는 용질, 그리고 현탁제, 가용화제, 농후제, 안정화제, 그리고 보존제를 포함할 수 있다. 예를 들면, 주제의 약학 조성물은 용기, 가령, 멸균 용기, 이를 테면 주사기 안에 존재할 수 있다. 상기 제형은 단일-약량 또는 다중-약량의 밀봉된 용기, 이를 테면 앰플 및 바이알내 존재할 수 있고, 그리고 사용 전 주사용 물과 같은 멸균 액체 부형제의 추가만을 요구하는 냉동-건조(동결건조)된 상태로 보관될 수 있다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립 및 테블릿으로부터 만들 수 있다.

[0301] 제형 안에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 농도는 상당히 가변적일 수 있고 (가령, 약 0.1% 미만에서부터 보통 약 2%이거나 최소한 이 농도이거나 내지 최대 20% 내지 50% 또는 그 이상의 중량비), 주로 유체 용적, 점도 그리고 선택된 특별한 투여 방식 및 환자의 필요에 따라 환자-기반의 인자들에 의해 통상적으로 선택될 것이다.

[0302] 본 명세서는 본 명세서의 조성물, 가령, 액체 조성물이 포함된 용기를 제공한다. 상기 용기는 가령, 주사기, 앰플, 및 이와 유사한 것일 수 있다. 일부 경우들에 있어서, 상기 용기는 무균이다. 일부 경우들에 있어서, 상기 용기와 상기 조성물은 모두 무균이다.

[0303] **핵산 또는 재조합 발현 벡터를 포함하는 조성물.**

[0304] 본 명세서는 조성물, 가령, 본 명세서의 핵산 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터를 포함하는 약학 조성물을 제공한다. 광범위한 다양한 약학적으로 수용가능한 부형제들은 당분야에 공지되어 있고, 본 명세서에서 논의할 필요는 없다. 약학적으로 수용가능한 부형제들은 A. Gennaro (2000) "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 20th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins; Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems (1999) H. C. Ansel et al., eds 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins; 및 Handbook of Pharmaceutical Excipients (2000) A. H. Kibbe et al., eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc이 포함된 다양한 공개물에서 충분히 설명되었다.

[0305] 본 명세서의 조성물은 a) 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터; 그리고 b) 완충액, 계면활성제, 항산화제, 친수성 폴리머, 텍스트린, 켈레이트 물질, 현탁 물질, 용해제, 농후제, 안정화제, 정균 물질, 습윤 물질 및 보존제 중 하나 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 적합한 완충액들은 (이를 테면 N,N-비스(2-히드록시에틸)-2-아미노에탄술폰산 (BES), 비스(2-히드록시에틸)아미노-트리스(히드록시메틸)메탄 (BIS-Tris), N-(2-히드록시에틸)피페라진-N ' 3-프로판술폰산 (EPPS 또는 HEPPS), 글리실글리신, N-2-히드록시에틸피페라진-N ' -2-에탄술폰산 (HEPES), 3-(N-몰포리노)프로판 술폰산 (MOPS), 피페라진-N,N ' -비스(2-에탄-술폰산) (PIPES), 중탄산 나트륨염, 3-(N-트리스(히드록시메틸)-메틸-아미노)-2-히드록시-프로판술폰산) TAPSO, (N-트리스(히드록시메틸)메틸-2-아미노에탄

술폰산 (TES), N-트리스(히드록시메틸)메틸-글리신 (Tricine), 트리스(히드록시메틸)-아미노메탄 (Tris), 등)을 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 적합한 염들은 가령, NaCl, MgCl₂, KCl, MgSO₄, 등을 포함한다.

[0306] 본 명세서의 약학 제형은 본 명세서의 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 약 0.001% 내지 약 90% (w/w)의 양으로 포함할 수 있다. 하기 제형의 설명에 있어서, "주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터"는 본 명세서의 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 포함하는 것으로 이해할 것이다. 예를 들면, 일부 구체예들에 있어서, 주제의 제형은 본 명세서의 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 포함한다.

[0307] 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터는 다른 화합물 또는 화합물들의 혼합물과 혼합되거나, 포집되거나 또는 그렇지 않으며 연합될 수 있고; 이러한 화합물들은 가령, 리포솜 또는 수용체-표적화된 분자들을 포함할 수 있다. 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터는 취입, 분포 및/또는 흡수를 지원하는 하나 또는 그 이상 성분들과 함께 제형 안에서 복합될 수 있다.

[0308] 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터 조성물은 임의의 많은 가능한 투여형으로 제형화될 수 있는데, 이를 테면, 테블릿, 캡슐, 겔 캡슐, 액체 시럽, 연성 겔, 좌약, 그리고 관장제가 포함되나, 이에 국한되지 않는다. 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터 조성물은 또한 수성, 비-수성 또는 혼합된 매질 안에서 현탁액으로 제형화될 수 있다. 수성 현탁액은 현탁액의 점성을 증가시키는 물질, 예를 들면, 카르복시메틸셀룰로오스 나트륨, 솔비톨 및/또는 텍스트란을 더 포함할 수 있다. 상기 현탁액은 또한 안정제를 포함할 수 있다.

[0309] 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 포함하는 제형은 리포솜 제형일 수 있다. 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 용어 "리포솜"은 구형 이중층 또는 이중층 안에 배열된 양쪽성 지질로 구성된 소포를 의미한다. 리포솜은 친지성 물질로부터 형성된 막과 운반될 조성을 담고 있는 수성 내부를 갖는 단층라멜라 또는 다층라멜라 소포다. 양이온 리포솜은 안정적인 복합체를 만들기 위하여 음하전된 DNA와 상호작용할 수 있는 양하전된 리포솜이다. pH 민감성 또는 음으로 하전된 리포솜은 이와 복합되기 보다는 DNA를 포획하는 것으로 간주된다. 양이온 리포솜 및 비-양이온 리포솜 모두다 주제의 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 운반하는데 이용될 수 있다.

[0310] 리포솜은 또한 "입체적으로 안정화된" 리포솜이며, 본 명세서에서 이용된 바와 같이, 이 용어는 리포솜에 혼합될 때 하나 또는 그 이상의 특화된 지질을 포함하여, 이러한 특화된 지질이 없는 리포솜과 비교하여 순환계 수명이 강화되게 된다. 입체적으로 안정화된 리포솜의 예는 이 리포솜의 소포-형성 지질 부분의 일부는 하나 또는 그 이상 당지질 또는 하나 또는 그 이상 친수성 폴리머들에 의해 유도화된, 이를 테면 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 모이어티로 유도화된 것들이다. 리포솜 및 이의 용도는 U.S. 특허 6,287,860에서 더 설명되며, 이는 본 명세서의 참고자료에 전문이 편입된다.

[0311] 본 명세서의 제형 및 조성물은 또한 계면활성제를 포함할 수 있다. 약물 산물, 제형 및 에멀션안에 계면 활성제의 이용은 당업계에 공지되어 있다. 계면활성제 및 이의 용도는 U.S. 특허 번호 6,287,860에서 더 설명된다.

[0312] 한 구체예에 있어서, 다양한 침투 인핸서(enhancers)는 핵산의 효과적인 운반을 초래하기 위하여 포함된다. 세포 막을 통하여 비-친지성 약물의 확산을 돕는데 추가하여, 침투 인핸서는 친지성 약물의 침투성을 또한 강화시킨다. 침투 인핸서는 5개의 광범위한 범주, 가령, 계면활성제, 지방산, 담즙염, 킬레이트 물질 및 비-킬레이트 비-계면활성제중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다. 침투 인핸서 및 이의 용도는 U.S. 특허 번호 6,287,860에서 더 설명되며, 이는 본 명세서의 참고자료에 전문이 편입된다.

[0313] 경구 투여용 조성물 및 제형은 분말 또는 과립, 미세과립, 나노과립, 물 또는 비-수성 매질상에 현탁액 또는 용액, 캡슐, 겔 캡슐, 사세, 테블릿 또는 미니테블릿을 포함한다. 농후제, 풍미제, 희석제, 유화제, 분산 보조 또는 결합제가 바람직할 수 있다. 적합한 경구 제형들은 주제의 안티센스 핵산이 하나 또는 그 이상 침투 인핸서 계면활성제 및 킬레이트와 병용 투여되는 것들을 포함한다. 적합한 계면활성제는 지방산 및/또는 에스테르 또는 이의 염, 담즙산 및/또는 이의 염을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 적합한 담즙산/염 그리고 지방산 및 이의 용도는 U.S. 특허 번호 6,287,860에서 더 설명된다. 침투 인핸서, 예를 들면, 담즙산/염과 복합된 지방산/염의 조합 또는 적합하다. 예시적인 적합한 조합은 로르산의 나트륨염, 카프르산, 그리고 UDCA이다. 더욱이 침투 인핸서는 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 및 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 적합한 침투 인핸서는 프로필렌 글리콜, 디메틸술폰, 트리에타노이민, N,N-디메틸아세트아미드, N,N-디메틸포름아미드, 2-피롤리돈 및 이의 유도체들, 테트라히드로퓨릴 알코올, 및 AZONE™을 또한 포함한다.

[0314] **T 세포 활성을 조절하는 방법들**

[0315] 에피토프 펩티드를 인지하는 T 세포 클론을 저해하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된

제조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 제조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 저해시키는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.

[0316] 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시키는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 제조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 제조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 T 세포 클론을 자극하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.

[0317] 본 명세서는 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 T 세포에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 접촉시키는 것을 포함하며, 여기에서 접촉 상기 T 세포에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 활성이 선택적으로 조정된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 접촉은 시험관에서 일어난다. 일부 경우들에 있어서, 상기 접촉은 생체내에서 일어난다. 일부 경우들에 있어서, 상기 접촉은 생체외에서 일어난다.

[0318] 일부 경우들에 있어서, 가령, 여기에서 상기 표적 T 세포는 CD8⁺ T 세포인 경우, 상기 다량체 폴리펩티드는 클래스 I MHC 폴리펩티드 (가령, β2-미크로글로불린 및 클래스 I MHC 중쇄)를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 가령, 여기에서 상기 표적 T 세포는 CD4⁺ T 세포인 경우, 상기 다량체 폴리펩티드는 클래스 II MHC 폴리펩티드 (가령, 클래스 II MHC α 쇠; 클래스 II MHC β 쇠)를 포함한다.

[0319] 여기에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드인 면역조정 폴리펩티드를 포함할 때, 상기 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포가 활성화된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 암 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 암 세포를 지향하는 상기 T 세포의 세포독성 활성이 증가된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 암 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 수가 증가된다.

[0320] 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 바이러스-감염된 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 바이러스-감염된 세포를 지향하는 상기 T 세포의 세포독성 활성이 증가된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 바이러스-감염된 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 수가 증가된다.

[0321] 여기에서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 저해성 폴리펩티드인 면역조정 폴리펩티드를 포함할 때, 상기 T 세포에 상기 다량체의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포가 저해된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 자가 항원에 존재하는 에피토프에 특이적인 자가-반응성 T 세포이며, 그리고 상기 접촉으로 상기 자가-반응성 T 세포의 수가 감소된다.

[0322] **치료 방법들**

[0323] 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 저해함으로써 자가면역 장애를 치료하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 제조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 제조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 자가면역 장애를 치료하는데 효과적인 양의 저해 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.

[0324] 암에 있는 에피토프 펩티드를 인지하는 자가-반응성 T 세포 클론을 자극시킴으로써 암을 치료하는 방법이 또한 제공되는데, 이 방법은 본 명세서에서 설명된 제조합 펩티드를 T 세포에 접촉시키는 것을 포함하며, 이때 상기 제조합 펩티드는 상기 에피토프 펩티드를 포함하며, 그리고 암을 치료하는데 효과적인 양의 촉진 도메인인 T 세포 조정 도메인을 포함한다.

[0325] 한 구체예에서, 본 발명의 제조합 폴리펩티드를 발현시키기 위하여 형질변환된 세포는 단리된 현탁액-적응된 세포다. 다수의 진술한 단리된 현탁액-적응된 세포, 또는 다수의 상기 제조합 핵산의 한 구체예에서, 상기 핵산은 DNA를 포함한다.

[0326] 한 구체예에서, 상기 T-세포는 대상으로부터 획득된 주변 T-세포를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 T-세포는 대상의 T-세포를 포함한다. 한 구체예에서, 상기 T-세포는 대상의 주변 T-세포를 포함한다. 본 명세서의 상기

방법들의 한 구체예에서, 상기 대상은 인간이다.

[0327] 본 발명은 개체에서 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 본 명세서의 상기 다량체 폴리펩티드, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 하나 또는 그 이상의 핵산이 개인에게서 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는데 효과적인 양을 상기 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 치료 방법은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상의 재조합 발현 벡터를 이를 필요로 하는 개인에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 치료 방법은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상 mRNA 분자들을 이를 필요로 하는 개인에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 치료 방법은 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 이를 요하는 개인에게 투여하는 것을 포함한다.

[0328] 본 명세서는 개인에게서 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에게 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상 핵산 (가령, 발현 벡터들; mRNA; 등)을 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 개인에서 선택적으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 선택적으로 조절한다. 에피토프-특이적 T 세포의 활성의 선택적 조절로 개인의 질환 또는 장애가 치료될 수 있다. 따라서, 본 명세서는 이를 요하는 개인에게 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법을 제공한다.

[0329] 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 활성화 폴리펩티드이며, 그리고 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포를 활성화시킨다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 암-연합된 에피토프이며, 그리고 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 암-연합된 에피토프에 특이적인 T 세포 특이적의 활성을 증가시킨다.

[0330] 본 명세서는 개인에서 암을 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에게 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상 핵산 (가령, 발현 벡터들; mRNA; 등)을 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 암 에피토프인 T-세포 에피토프를 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 자극 면역조정 폴리펩티드이다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량(effective amount)"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 암 세포를 감소시키는 양이다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 전, 또는 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 없는 경우 상기 개체 안의 암 세포 수와 비교하였을 때, 이 개체에서 암 세포의 수를 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95% 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 종양의 양을 감소시키는 양이다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 전, 또는 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 없는 경우 상기 개체 안의 종양의 양과 비교하였을 때, 이 개체에서 종양의 양을 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95% 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인의 생존 시간을 증가시키는 양이다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량이 이를 요하는 개인에게 투여되었을 때, 상기 개체에게 상기 다량체 폴리펩티드의 투여가 없을 때 기대되는 생존 시간과 비교하였을 때, 상기 개체의 생존 시간을 최소한 1 개월, 최소한 2 개월, 최소한 3 개월, 3 개월 내지 6 개월, 6 개월 내지 1 년, 1 년 내지 2 년, 2 년 내지 5 년, 5 년 내지 10 년, 또는 그 이상으로 증가시킨다.

[0331] 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 바이러스-감염된 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 바이러스-감염된 세포를 지향하는 상기 T 세포의 세포독성 활성이 증가된다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프-특이적 T 세포는 바이러스-감염된 세포 상에 존재하는 에피토프에 특이적인 T 세포이며, 그리고 상기 에피토프-특이적 T 세포

에 상기 다량체 폴리펩티드의 접촉으로 상기 에피토프-특이적 T 세포의 수가 증가된다.

[0332] 따라서, 본 명세서는 개인에게서 바이러스 감염을 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상의 핵산을 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 바이러스 에피토프인 T-세포 에피토프를 포함하며, 그리고 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 자극 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 바이러스-감염된 세포의 수를 감소시키는 양이다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 전, 또는 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 없는 경우 상기 개체 안의 바이러스-감염된 세포 수와 비교하였을 때, 이 개체에서 바이러스-감염된 세포의 수를 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95% 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 바이러스-감염된 세포의 수를 탐지불가능한 수준으로 감소시키는 양이다.

[0333] 따라서, 본 명세서는 개인에게서 감염을 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상의 핵산을 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 병원체-연합된 에피토프인 T-세포 에피토프를 포함하며, 그리고 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 자극 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 병원체의 수를 감소시키는 양이다. 예를 들면, 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 전, 또는 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 없는 경우 상기 개체 안의 병원체의 수와 비교하였을 때, 이 개체에서 병원체의 수를 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, 또는 최소한 95% 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 병원체의 수를 탐지불가능한 수준으로 감소시키는 양이다. 병원체들은 바이러스, 박테리아, 원생동물, 및 이와 유사한 것을 포함한다.

[0334] 일부 경우들에 있어서, 상기 면역조정 폴리펩티드는 저해 폴리펩티드이며, 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 에피토프-특이적 T 세포의 활성을 저해한다. 일부 경우들에 있어서, 상기 에피토프는 자가-에피토프이며, 그리고 상기 다량체 폴리펩티드는 상기 자가-에피토프에 특이적인 T 세포 활성이 선택적으로 저해된다.

[0335] 본 명세서는 개인에게서 자가면역 장애를 치료하는 방법을 제공하는데, 상기 방법은 상기 개체에 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 효과량, 또는 상기 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 하나 또는 그 이상의 핵산을 투여하는 것을 포함하며, 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 자가 에피토프인 T-세포 에피토프를 포함하며, 그리고 여기에서 상기 다량체 폴리펩티드는 저해성 면역조정 폴리펩티드를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 상기 개체에 상기 다량체 폴리펩티드의 투여 전, 또는 상기 다량체 폴리펩티드의 투여가 없을 때 자가-반응성 T 세포의 수와 비교하였을 때, 자가-반응성 T 세포의 수는 최소한 10%, 최소한 15%, 최소한 20%, 최소한 25%, 최소한 30%, 최소한 40%, 최소한 50%, 최소한 60%, 최소한 70%, 최소한 80%, 최소한 90%, or 최소한 95%로 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 개인에게서 Th2 사이토킨 생산을 감소시키는 양이다. 일부 경우들에 있어서, 다량체 폴리펩티드의 "효과량"은 하나 또는 그 이상 투여분량으로 이를 요하는 개인에게 투여될 때, 이 개인에게서 자가면역 질환과 연합된 하나 또는 그 이상의 증상을 개선시키는 양이다.

[0336] 상기에서 명시된 바와 같이, 일부 경우들에 있어서, 주제의 치료 방법을 실행함에 있어서 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 폴리펩티드 그 자체로 이를 요하는 개인에게 투여된다. 다른 경우들에 있어서, 주제의 치료 방법을 실행함에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 핵산(들)은 이를 요하는 개인에게 투여된다. 따라서, 다른 경우들에 있어서, 본 명세서의 하나 또는 그 이상의 핵산, 가령, 본 명세서의 하나 또는 그 이상 재조합 발현 벡터(들)은 이를 요하는 개인에게 투여된다.

[0337] 제형(Formulations)

[0338] 적합한 제형들은 상기에서 설명되며, 여기에서 적합한 제형들은 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 적합한 제형은 a) 본 명세서의 다량체 폴리펩티드; 그리고 b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 적합한 제형은 a) 본 명세서의 다량체 폴리펩티드가 인코딩된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산; 그리고 b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함하며; 일부 경우들에 있어서, 상기 핵산은 mRNA이다. 일부 경우들에 있어서, 적합한 제형은 a) 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 제1 핵산; b) 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 제2 핵산; 그리고 c) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 적합한 제형은 a) 본 명세서의 다량체 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열이 포함된 재조합 발현 벡터; 그리고 b) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함한다. 일부 경우들에 있어서, 적합한 제형은 a) 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제1 폴리펩티드가 인코딩된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제1 재조합 발현 벡터; b) 상기 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 제2 폴리펩티드가 인코딩된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 제2 재조합 발현 벡터; 그리고 c) 약학적으로 수용가능한 부형제를 포함한다.

[0339] 적합한 약학적으로 수용가능한 부형제들은 상기에서 설명된다.

[0340] 투약형(Dosage)

[0341] 적합한 투약형은 다양한 임상적 인자들에 근거하여 주치의 또는 기타 자격이 있는 의료인에 의해 결정될 수 있다. 의료 분야에 공지된 바와 같이 임의의 한 명의 환자를 위한 투약형은 환자의 체격, 신체 표면적, 연령 및 투여되는 특정 폴리펩티드 또는 핵산, 환자의 성별, 투여 시간 및 경로, 전반적인 건강, 그리고 동시에 투여되는 다른 약물이 포함된 많은 인자들에 따라 달라진다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 투여분량 당 1 ng/kg 체중 내지 20 mg/kg 체중, 가령 0.1 mg/kg 체중 내지 10 mg/kg 체중, 가령 0.5 mg/kg 체중 내지 5 mg/kg 체중 사이의 양으로 투여될 수 있고; 그러나, 언급된 인자들을 구체적으로 고려함으로써 이 예시적 범위 이하 또는 이상의 투여분량도 고려된다. 상기 섭생이 연속 주입인 경우, 분당 1 µg 내지 10 mg/체중 kg 범위 안에 또한 있을 수 있다.

[0342] 일부 경우들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 적합한 투여분량은 0.01 µg 내지 100 g/체중 kg, 0.1 µg 내지 10 g/체중 kg, 1 µg 내지 1 g/체중 kg, 10 µg 내지 100 mg/체중 kg, 100 µg 내지 10 mg/체중 kg, 또는 100 µg 내지 1 mg/체중 kg이다. 당업자는 체액 또는 조직에서 측정된 잔류 시간 및 투여된 물질의 농도에 근거하여 투약을 위한 반복 속도를 용이하게 예측할 수 있다. 성공적인 치료 후, 이 질환 상태의 재발을 방지하기 위하여 이 환자는 유지 요법을 거치는 것이 바람직할 수 있고, 이때 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 0.01 µg 내지 100 g/체중 kg, 0.1 µg 내지 10 g/체중 kg, 1 µg 내지 1 g/체중 kg, 10 µg 내지 100 mg/체중 kg, 100 µg 내지 10 mg/체중 kg, 또는 100 µg 내지 1 mg/체중 kg 범위의 유지 투여분량으로 투여된다.

[0343] 투여분량 수준은 특이적 다량체 폴리펩티드, 증상의 심각성, 그리고 부작용에 대한 대상의 민감성의 함수로써 변화될 수 있다는 것을 당업자는 용이하게 인지할 것이다. 주어진 화합물의 바람직한 투약형은 다양한 수단에 의해 당업자에 의해 용이하게 측정가능하다.

[0344] 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 다중 투여분량, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터가 투여된다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드의 투여 빈도, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 임의의 다양한 인자들, 가령, 증상의 심각성에 따라 변화될 수 있다. 예를 들면, 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 한 달에 한번, 한 달에 두번, 한 달에 세번, 격주(qow), 매주(qw), 주당 2회(biw), 주당 3회(tiw), 주당 4회, 주당 5회, 주당 6회, 격일(qod), 매일(qd), 하루에 2회(qid), 또는 하루에 3회(tid) 투여될 수 있다.

[0345] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터의 투여 기간, 가령, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터가 투여되는 기간은 임의의 다양한 인자들, 가령, 환자 반응, 등에 따라 달라질 수 있다. 예를 들면, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 약 1 일 내지 약 1 주, 약 2 주 내지 약 4주, 약 1 개월 내지 약 2 개월, 약 2 개월 내지 약 4 개월, 약 4 개월 내지 약 6 개월, 약 6 개월 내지 약 8 개월, 약 8 개월 내지 약 1 년, 약 1 년 내지 약 2 년, 또는 약 2 년 내지 약 4 년, 또는 그 이상의 범위의 기간에 걸쳐 투여될 수 있다.

[0346] 투여 경로

- [0347] 활성 물질 (본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터)은 약물 전달에 적합한 임의의 이용가능한 방법 및 경로, 생체내 및 생체의 방법, 뿐만 아니라 전신 및 국소화된 투여 경로를 이용하여 개인에게 투여된다.
- [0348] 투여를 위한 통상적인 그리고 약학적으로 수용가능한 투여 경로는 종양내, 종양간, 근육내, 기관내, 두개내, 피하, 피부내, 국소 적용, 정맥내, 동맥내, 직장, 비강, 경구, 및 다른 창자 및 비경구 투여 경로를 포함한다. 투여 경로는 바람직한 경우, 상기 다량체 폴리펩티드 및/또는 바람직한 효과에 따라 복합되거나, 또는 조정될 수 있다. 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 또는 본 명세서의 핵산 또는 재조합 발현 벡터는 단일 투여분량 또는 다중 투여분량으로 투여될 수 있다.
- [0349] 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 정맥으로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 근육내로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 국소로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 종양 안으로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 종양 주변으로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 두개내로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 피하로 투여된다.
- [0350] 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 정맥으로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 근육내로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 국소로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 종양내로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 종양주변으로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 본 명세서의 다량체 폴리펩티드는 두개내로 투여된다. 일부 구체예들에 있어서, 다량체 폴리펩티드는 피하로 투여된다.
- [0351] 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터는 전신 또는 국소화된 경로 포함하여 통상적인 약물의 전달에 적합한 임의의 이용가능한 통상적인 방법들과 경로들을 이용하여 숙주에게 투여될 수 있다. 일반적으로, 본 발명에서 고려되는 투여 경로는 창자, 장관외, 또는 흡입 경로를 포함하나, 반드시 이에 제한되지 않는다.
- [0352] 흡입 투여이외의 장관외 투여 경로에는 국소, 경피, 피하, 근육내, 안와내, 관절내, 척추내, 흉골내, 종양내, 종양주변, 그리고 정맥내 경로, 가령, 소화관 이외의 임의의 투여 경로를 포함하나, 반드시 이에 제한되지 않는다. 장관외 투여는 본 명세서의 다량체 폴리펩티드, 본 명세서의 핵산, 또는 본 명세서의 재조합 발현 벡터의 전신 또는 국소 전달되도록 실행될 수 있다. 여기에서 전신 전달이 바람직할 경우, 투여는 일반적으로 침투성 또는 전신으로 흡수된 국소 또는 점막 투여와 관련된다.
- [0353] **치료에 적합한 대상**
- [0354] 본 명세서의 방법으로 치료에 적합한 대상들은 암에 걸린 것으로 진단을 받은 개인들, 암 치료를 받았지만 치료 실패한 개인들, 그리고 암 치료를 받았지만, 초기에는 치료 반응이 있었지만, 이 치료에 실질적으로 난치성인 개인들이 포함된 암에 걸린 개인들을 포함한다. 본 명세서의 방법으로 치료에 적합한 대상들은 감염에 걸린 것으로 진단을 받은 개인, 그리고 감염 치료를 받았지만, 이 치료에 실패한 개인들이 포함된 감염 (가령, 병원체 이를 테면 세균, 바이러스, 원생동물, 등로 감염)에 걸린 개인들을 포함한다. 본 명세서의 방법으로 치료에 적합한 대상들은 박테리아 감염에 걸린 것으로 진단을 받은 개인, 그리고 박테리아 감염 치료를 받았지만, 이 치료에 실패한 개인들이 포함된 박테리아 감염에 걸린 개인들을 포함한다. 본 명세서의 방법으로 치료에 적합한 대상들은 바이러스 감염에 걸린 것으로 진단을 받은 개인, 그리고 바이러스 감염 치료를 받았지만, 이 치료에 실패한 개인들이 포함된 바이러스 감염에 걸린 개인들을 포함한다. 본 명세서의 방법으로 치료에 적합한 대상들은 자가면역 질환에 걸린 것으로 진단을 받은 개인, 그리고 자가면역 질환 치료를 받았지만, 이 치료에 실패한 개인들이 포함된 자가면역 질환에 걸린 개인들을 포함한다.
- [0355] 본 명세서에서 설명된 다양한 요소들의 모든 조합은 본 명세서에서 나타내지 않는 한, 또는 내용에 명시적으로 반대되지 않는 한, 본 발명의 범위 안에 있다.
- [0356] 본 발명은 다음의 실험적인 상세한 내용으로부터 더 잘 이해될 것이다. 그러나, 당업자는 논의된 특이적 방법들 및 결과들은 이후 이어지는 청구항에서 더욱 완전하게 설명되는 바와 같이, 본 발명의 단순한 설명임을 바로

인지할 것이다.

[0357] **실시예들**

[0358] 다음의 실시예들은 본 발명이 어떻게 만들어지고, 이용되는지에 대한 완벽한 공개 및 설명을 당업계 숙련자들에게 제시하기 위하여 제공되는 것이며, 발명자들이 이들의 발명으로 간주하는 본 발명의 범위를 제한하려는 의도는 아니며, 하기 실험등이 실행할 수 있는 모든 또는 유일한 실험으로 제시하려는 의도도 아니다. 이용된 수치(가령, 양, 온도, 등)에 있어서 정확성을 보장하기 위한 노력이 있었지만, 일부 실험적 오류 및 편차들은 고려되어야 한다. 다른 언급이 없는 한, 부분은 중량부이며, 분자량은 중량 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 또는 실온이며, 압력은 대기압 또는 그 주변값이다. 표준 약어는 가령, bp, 염기쌍(들); kb, 킬로베이스(들); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로베이스(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오티드(들); i.m., 근육내(로); i.p., 복막내(로); s.c., 피하(로); 그리고 이와 유사한 것들.

[0359] **실시예 1: SynTac 이중이량체들의 생성**

[0360] 본 명세서의 측면들은 신규한 단백질 기반의 치료요법적 플랫폼을, "synTac"에 관계하며, 이는 상기 면역학적 시냅스의 상호작용 특이성 및 조절 신호를 모방한다. SynTac는 신체의 자연적 반응의 용해성 형태인, 정확한 T 세포 연계 및 클론 T 세포 활성화 또는 저해 (도 1)를 허용하는 MHC-에피토프에 상호작용적 분자를 연계시키는 융합 단백질이다. 이러한 방식에서, 최상의 에피토프, 이중특이적 항체, 가용성 상호작용적 분자들 및 ADCs를 조합한다. SynTac는 자유 에피토프의 교차 제시를 불허하는 "단일 쇠 융합" 디자인으로, 상기 MHC-에피토프를 통한 매우 특이적 세포 표적화를 허용한다 (도 2a-2c). T 세포 조정 도메인 (대안적으로 "MOD"로 설명됨)은 상호작용적 연계의 성질에 따라, 활성화 또는 저해를 유도하도록 또한 공유적으로 부착된다. 이는 포괄적이 아니라, 항원-특이적 항원 T 세포 반응을 유도한다. 특히, 상기 MOD는 임의의 공지된 항체, 항체 단편, 상호작용적 분자, 또는 다른 문헌-입증된 페이로드 (사이토킨, 독소, 등)를 포함할 수 있고, 상기 T 세포 상에서 효과를 발휘하기 위하여 내화될 필요는 없다. 더욱이, 표적들은 모두 전통적인 이중특이적 항체의 "공간적 문제 (spacing problem)"를 없애기 위하여 동일한 세포의 표면 상에 제공된다.

[0361] 한 구체예에 있어서, 상기 전략은 연합된 산물의 원자가, 안정성 및 치료요법적 창(window)을 증가시키기 위하여 Fc-융합 구축(비-제한적 예는 도 2a-2c에 제시됨)을 이용한다. 간략하게 설명하자면, 상기 Fc 영역은 도 2a-2c에서 2개의 가는 선으로 설명된 2개의 이황화 결합을 통하여 안정화된, 고유의 공유 동종-이량체이다. 상기 Fc 도메인의 존재는 신생 Fc-수용체와의 상호작용 뿐만 아니라 더 큰 크기의 이가 분자들의 경우 신장 제거가 더 느린 것으로 인하여, 혈장 반감기를 증가시킴으로써 치료요법적 활성을 연장시키는 것으로 알려져 있다 [23, 24]. 생물물리학적 측면에서, 상기 Fc 도메인은 독립적으로 폴드되며, 생체내 및 시험관에서 짝 분자의 용해성 및 안정성을 개선시키고 [25], 그리고 상기 Fc 영역은 생산 동안 단백질-A/G 친화력 크로마토그래피에 의해 용이한 비용-효과적인 정제를 허용한다 [26]. 도 2a는 IgG Fc 영역에 이의 카르복시 말단이 연계된 단일 쇠 펩티드 MHC 단백질 (단일 쇠 삼량체 [27])을 나타낸다. 설명된 바와 같이, 이들 단일 쇠 구조는 대안적 단백질 연계 (이를 테면 MOD)를 통하여 이 시스템을 연장시키는 이의 능력으로 제한된다. 특히, 연계는 도 2a에서 점선(본 명세서에서 직접적 연계)으로 나타난 바와 같이 상기 MHC의 영역 C-말단으로 바람직하게 제한된다. MHC I 또는 MHC II 분자들이 이용될 수 있다. 직접적인 연계 방법을 이용한 구조체들의 발현은 이용되는 MOD에 상당히 의존적이다. 본 명세서에서 공개된, 이에 대한 해결은 상기 구조체를 각각 중쇄와 경쇄로 절단하고, 이 두 펩티드과 단백질을 다양한 말단에 융합시키는 것이다 (도 2b 및 도 2c). 하나의 구조는 경쇄 (베타 2 마이크로글로블린)에 상기 펩티드의 아미노-말단이 연합되고, 이어서 MOD 작동체 분자에 상기 경쇄의 카르복시 말단 연장된다(도 2b). 이 시나리오에서, 상기 중쇄 (HLA-분자)는 상기 Fc 영역에 융합된다. 모든 성분들은 진핵 세포 (가령, HEK, CHO) 안에서 생산 동안 연합되며, 자가 어셈블리된다. 구조체들은 이황화 다리를 통하여 함께 공유적으로 유지된다. 대안적 방향(도 2c)은 Fc 융합된 중쇄의 MOD 아미노 말단은 B2M 경쇄에 여전히 연계된 펩티드를 둔다. 다시 모든 성분들은 자가 어셈블리하고, 이황화 결합을 통하여 안정적 공유 상호작용을 형성한다. 전통적인 이중특이적 항체는 하나의 아미노 말단 Fc 페이로드가 하나의 카르복시 말단 Fc 페이로드와 이량체를 형성함으로써 2개 세포를 연결시키려고 대개 시도한다. 대조적으로, 본 명세서에서 공개된 구조는 전통적인 항체 안에서 볼 수 있었던 CH1-경쇄 상호작용과 유사하게, 동일한 세포의 표면으로 2개의 상이한 단백질 페이로드, MHC-에피토프 표적화 기전 및 MOD 작동체를 지향하게 한다. 더욱이, 돌연변이를 통하여 Fc 수용체들에 대한 결합 친화력을 조정함으로써 Fc 융합물의 사용으로 연합된 작동체 기능의 맞춤형 연계, 이를 테면 항체-의존적 세포-중개된 세포독성 (ADCC), 보체-의존적 세포독성 (CDC) 또는 식작용을 허용한다 [28].

[0362] 2개의 기본 synTac 분자들의 도안은 도 3a-3b에 제시된다. 간략하게 설명하자면, 이 구조체는 고유의 인간 B2M 리더 서열을 이용하여 효과적인 분비 및 ER 프로세싱, 그 직후 후보 에피토프 (펩티드로 라벨됨)를 허용한다. 일단 ER에서 리더 서열은 완전하게 제거되며, 상기 MHC 결합 주머니에서 상기 펩티드의 제시를 허용한다. " 경쇄 " 연계 (LC, 도 3a)의 경우, 이는 링커 L1을 통하여 고유의 B2M 분자와 링커 L2를 통하여 MOD를 통하여 연결된다. 이 전체 카세트는 각 쇠의 화학량론적 발현을 허용하기 위하여, 바이러스 돼지 테스초바이러스-1 (P2A) " 자가-절단(self-cleaving) " 펩티드에 의해 또다른 B2M 리더 서열, MHC 중쇄(가령, 실시예들에서 인간 HLA-A02:01 또는 뮤린 H-2Kd) 및 Fc 도메인 (인간 IgG1 또는 뮤린 IgG2a)에 연계된다. 포유류 세포에서 발현된 모든 바이러스 2A 펩티드의 최고로 보고된 " 절단 " 효과를 가지기 때문에 P2A 펩티드가 선택되었다 [29]. 상기 " 중쇄 " (HC, 도 3b) 연계는 유사하지만, 그러나 상기 바이러스 P2A 펩티드가 B2M에 이어지며, MOD는 제2 리더 펩티드에 이어져, 도 2c에 나타난 단백질 구조체로 이어진다. 두 구조체들은 용이한 정제를 위하여 8x His 태그 (tag)에서 종료될 수 있다.

[0363] **특화된 발현 세포:** P2A 연계 덕분에 비록 두 쇠 모두 발현되고, ER에 공동-국소화되지만, HEK293 세포는 선천적으로 HLA와 B2M 분자들을 발현시키기 때문에, 발현 숙주 (현탁액 적응된 HEK293 세포)의 내생성 B2M은 재조합 형태를 압도할 수 있다는 일부 우려가 있었다. 이는 감소된 안정성 (가령, 전반적인 수율이 감소된 것으로 나타남) 또는 매우 바람직하지 못한 이종성 단백질 시료를 초래할 수 있다. 이 문제를 회피하기 위하여, CRISPR/CAS 시스템은 HEK 세포 풀(pool)로부터 고유의 B2M을 녹아웃시키기 위하여 조절되었다 [30]. 간략하게 설명하자면, 가이드 RNA는 내생성 B2M에 대하여 기획되었고, CRISPR/CAS를 인코딩하는 플라스미드와 함께 형질감염되었고, 3일 동안 배양이 허용되었다. 배양된 세포는 항-B2M에 대하여 표면 착색되었으며, 형광 활성화된 세포 소팅 (FACS)에 의해 카운터 선택된다(형광 상실에 의해 분류되었다). 분류된 세포는 회수되었고, 효과적인(~100%) 녹-아웃을 보장하기 위하여, 2회 이상의 착색, 카운터-소팅 및 회수(총 3회)를 받았다. 도 4에서 설명된 바와 같이, FACS를 통하여 B2M의 표면 발현을 모니터링함으로써 최종 풀의 질이 점검되었고, 이는 내생성 B2M 단백질의 완전한 제거를 암시한다. 게놈 수준에서 녹아웃 백분율을 정량화하기 위하여 차세대 서열화를 조정하는 실험이 그 다음 실행된다. 모든 연속 실험 동안 생성된 HEK-293-B2M-KO 계통 (HEK-KO로 명명됨)이 이용되었다.

[0364] **조작된 이항화 결합:** 단백질 안정성을 증가시키고, 세포성 MHC 분자들 (교차-제시) 및 B2M 방출에 대한 잠재적 펩티드 전달과 연합된 복합문제를 우회하기 위하여, 단일 쇠 구조체들이 일반적으로 이용된다[27, 31]. 그러나, 이들 단일 쇠 구조(도 2a에서 나타난)는 대안적 단백질 연계(이를 테면 MOD)를 통하여 이 시스템을 연장시키는 이의 능력으로 제한된다. 해결책은 기존 노력과 유사하게 상기 구조체를 각각 중쇄와 경쇄로 절단하는 것이지만 [32], 그러나 지금 설명된 바와 같이(도 2b 및 2c에서) 다양한 말단에 펩티드 및 단백질을 융합시킨다. 그러나, 최종 구조체에서 전통적인 단일 쇠 시스템에 의해 제공되는 안정성을 유지하기 위하여, 중쇄와 경쇄 사이에 이항화 다리를 구축하는 선택은 이항화에 묶인 단일 쇠 삼량체들 [dt-SCT]에서 볼 수 있는 바와 같이 조사되었다 (도 2에서 S-S로 설명됨) [33]. 특히, 초기 synTac 생산은 dt-SCT 이항화 기획을 이용하려는 시도 그리고 이는 존재하는 상기 펩티드에 더 의존적이기 때문에, dt-SCT 이항화 입체형태는 분열 단백질 시스템에서 사용에 이상적이지 않는 것으로 간주되었다. 따라서, 분열 단백질 시스템, 이를 테면 synTac에 더 적합한 이항화 다리를 만들기 위한 대안적 위치를 확인하기 위하여 추구되었다. 경쇄로부터 2개 위치가 선택되었고 (2, 12) 각각은 상기 중쇄에서 2개 위치에 대하여 잠재적인 이항화 결합을 갖는다 (PDB 2X4R의 분석에서 차례로 119, 120 및 236, 237). 특히, 이들 위치는 매우 보존된 잔기들로써, 펩티드 결합 홈 [34], TCR 복합체 [35] 또는 CD8 공동수용체 [36]와 상호작용하지 않는 것으로 알려져 있다. 한 구조체 (H236-L12, H는 중쇄 위치를 말하는 것이며, L은 경쇄를 말하는 것이며, 도 5a-5b에서 synTac 18로 라벨됨)의 경우 높은 수준이 발현이 설명되었고, 제2 구조체 (H237-L12, synTac 17, 도 5a-5b)의 경우 중간 수준의 발현이 설명되었다. dt-SCT 이항화 도식은 양성 조절 (synTac 2로 라벨됨)로 이용된다. 비-환원 PAGE 겔에 의해 볼 수 있는 것과 같이 고분자량 모이어티가 형성되었고, 이는 안정적 이항화 결합 형성을 암시한다 (도 5a). 모든 발현 구조체들은 100 ml 규모로 확대될 수 있고, 정제되고, 그리고 HEK 세포의 표면상에 발현된 동족(cognate) TCR (HEK-A6로 명명됨)의 결합을 통하여 활성이 테스트되며, FACS 형광에 의해 모니터링 될 때, 적절한 폴딩 및 활성이 제시된다 (도 5b). 비-동족 TCR을 발현시키는 세포 (HEK-AS01로 명명됨)는 음성 대조로 이용되었다. 추가 구조체들은 오직 C-말단 8X His 태그 (단가)만을 보유하도록 만들어졌다.

[0365] **SynTac 대조:** 기존 작업은 자가면역 당뇨병 [37], 질환-관련된 모델 시스템에 집중되었고, 특히 비-비만 당뇨병 (NOD) 마우스의 췌장 섬으로부터 단리된 자가반응성 CD8+ 8.3 T 세포가 이용되었다. 이 작업 상의 구축은 8.3 T 세포와 상호작용하는 것으로 알려진 뮤린 클래스-I H-2Kd 대립형질 (IGRP로 지칭됨)에 의해 제공되는 섬-특이적

포도당-6-포스파타제 촉매 소단위-관련된 단백질 (IGRP206-214)의 잔기 206 내지 214를 포함하는 펩티드를 보유하는 synTac 구조체들이 생성되었다. 8.3 T 세포에 의해 인지되지 않는 중앙-유도된 펩티드 (KYQAVTTTL, 서열 번호:18)를 제공하는 대조 synTac는 동일한 방식 (가령, 뮤린 H-2Kd 제공)에서 준비되었으며, TUM으로 명명되었다. 이 시스템이 다중 HLA 대립형질 (가령, 뮤린 H2-Kd, 인간 HLA-A02, 등)을 용인할 수 있는 수준을 결정하기 위하여, 제3 synTac 변이체는 이미 입증된 인간 HLA-A02 제한된 에피토프 (인간 T-림프친화성 바이러스, Tax 11-19)를 보유하도록 구축되었고, 그리고 HTLV로 명명되었다. 표적화된 T 세포 고갈을 허용하기 위하여, 최초 synTac 구조체들은 경쇄 연계 포맷을 이용하였고, PD-L1 MOD 도메인 (도 2b에서 도식으로 설명됨)을 가지고 있었다. 각 synTac 변이체 (IGRP, TUM 및 HTLV)는 HEK-KO 세포에서 양성 발현 프로파일을 보여주었고, 비-환원 SDS page 결과는 도 6a에 나타낸다. 발현 시스템의 일반성을 검사하기 위하여, T 세포 자극용 2개의 MODs (가령, TNF 리간드 4-1BBL의 인간화된 항-CD28 단일쇄 Fv 및 세포외 도메인), 그리고 T 세포 저해용 또다른 2개의 MODs (오직 CTLA4에만 결합하는 것으로 알려진 B7-1 [W88A]의 단일 점 돌연변이체 [38] 및 PD-L1 [오직 Ig 가변 도메인]의 절두된 변이체) 포함, 변이체 MOD 도메인들을 갖는 IGRP 기반의 synTac 구조체들이 조사되었다. HEK-KO 세포에서 모든 구조체들이 잘 발현되었다, 도 6b. 중쇄 연계 포맷을 조절하는 synTac 단백질 수준을 발현시키는 능력이 더 조사되었다 (도 2c에서 도식으로 나타냄). 이를 위하여, IGRP 에피토프는 상기 표적화 펩티드로 이용되었고, 그리고 PD-L1 또는 인간화된 항 CD28 scFv는 MOD로 이용되었고, 다시 HEK-KO 세포에서 양성 발현 프로파일을 보여준다(도 6c). 1L 또는 그 이상의 규모로 후속적으로 생산되었고, Ni²⁺ IMAC 및 내독소 없는 환경에서 크기 압출을 통하여 균질하게 정제되었다. 모든 IGRP 및 TUM 구조체들은 T 세포 증식 분석에 이용되었고, 그리고 HTLV 구조체들은 하기 TCR-synTac-PD1 다리연결 실험에 이용되었다.

[0366] *TCR-synTac-PD1 다리연결*: 크기 압출 후 용액 프로파일은 잘 풀드된 단백질임을 나타내지만, 활성 분석에서 이들 시약들을 이용하기 전, 각 synTac 성분의 통합성을 입증 (상기 MHC-에피토프 표적화 기전과 MOD 모두)하는 것이 바람직할 것이다. 이미 설명된 HEK-A6 세포는 양성 대조로 이용되었으며, 그리고 비-동족 TCR (AS01, HLA-A0201-제한된 입스타인-바르(Epstein-Bar) 바이러스 에피토프에 대한 반응성)를 발현시키는 세포가 생성되었고, 형질도입안된 부계 세포, HEK-AS01 및 PARENTAL와 함께 음성 대조로 이용되었다. TCR 발현은 mCerulean 형광 (TCR 융합 리포터) 그리고 상기 TCR 신호생성 복합체에 대한 표면 착색 (CD3 ε 발현 프록시)에 의해 확인되었다. HEK-A6 세포들은 비-형광 정제된 HTLV-PD-L1 synTac 변이체들로 공격을 받았고, 뮤린 IgG2a에 융합된 이의 동족 수용체 PD1와 함께 항온처리되었다. PD-1-Fc 융합은 FITC 라벨된 항-마우스 2차 항체를 이용하여 탐지되었다. FITC 형광 (가령 '다리연결(bridging)')은 7a-7b에서 나타난 바와 같이, 동족 TCR 표면 발현에 의존적이었다. 특히, 비-동족 TCR 보유 HEK 세포 또는 부계 세포(HEK-AS01, PARENTAL)에 맞서 공격을 받았을 때, 오직 FITC-PD1-Fc에 맞서 공격을 받았을 때 또는 MOD가 부재중일 때, FITC 형광은 관찰되지 않았다.

[0367] *작용에서 SynTac*: T 세포 분석. synTac 플랫폼의 표적화 능력에 대한 개념의 증명으로써, 저해 synTac 구조체는 T 세포 억제 분석에서 테스트되었다. PD-L1에 융합된 synTac IGRP의 경쇄 형태는 특히 IGRP206-214-특이적 T 세포를 억제하는 것으로 가정되었다. 8.3 T 세포 수용체에 대한 유전자삽입된 비-비만 당뇨 마우스로부터 CD8+ 비장세포가 정제되었다. 이 비장세포 하위부류는 H-2Kd 내용에서 IGRP206-214 펩티드에 특이적인 주로 CD8+ T 세포를 포함한다. 그 다음 이들 CD8+ T 세포는 다클론성 T 세포 활성화를 촉진시키는 것으로 공지된 처리, 고정된 항-CD3 항체 존재 하에 배양되었고, 임의의 억제성 효과의 항원 특이성을 검사하기 위하여 synTac IGRP-PD-L1 또는 synTac TUM-PD-L1의 가용성 형태와 함께 자극된 배양물로 처리되었다. PD-L1이 없는 synTac IGRP 형태는 MOD 도메인의 작동체 대조로 이용되었다. 접종(seeding) 전, 세포들은 T 세포 활성화-유도된 세포성 증식의 정도를 모니터링하기 위하여, 매 세포 분할시 형광 강도가 절반으로 주는 형광 시토졸 염료인, 카르복시플루오레신 숙시니미딜 에스테르 (CFSE)로 라벨되었다. 5 일의 배양 기간 후, 세포들은 회수되었고, 생존력 및 증식에 대하여 유동세포분석(flow cytometry)을 이용하여 검사되었다. 복합화된 유동 세포분석 비드 검사(multiplexed flow cytometric bead assay)를 이용하여 CD8+ T 세포 작동체 사이토킨 IFN γ 및 TNF α의 발현에 대하여 상청액이 또한 검사되었다. 검사된 모든 CD8+ T 세포 활성화 매개변수들은 도 8a-8d에서 나타난 것과 같이 작동체 (가령 MOD) 도메인-의존적 방식으로 억제되었다. 즉, IGRP-PD-L1 synTac는 TUM-PD-L1 synTac 또는 IGRP-(PD-L1 없는)과 비교하여 매우 억제적이며, 이는 synTac의 활성은 펩티드-MHC 및 MOD 도메인들 상에서 모두 의존적이었다는 것을 나타낸다(도 8d). SynTac는 IFN γ 분비를 대략 100 배 억제할 수 있었고, 세포의 대부분의 죽음을 초래하였고, MOD 도메인으로 PDL1을 보유하는 synTac는 기능적 억제 뿐만 아니라 표적화된 특이성을 제거할 수 있음을 암시한다.

[0368] *친화력 감쇠(Affinity Attenuation)*: 조절하는 도메인으로써 PD-1/PDL-1 시스템의 사용으로 있을 수 있는 문제는 PD-L1이 하류 신호생성에서 수반되는 차이를 가지며, 하나 이상의 수용체에 결합할 수 있는 능력을 가지다는 것이다. PD-L1은 B7-1 및 PD-1 모두에 결합하는 것을 보여주었다. 부정확한(off-target) 결합 문제를 피하기 위

하여, 독립적 Fc 융합으로 테스트될 때, 이들의 T 세포 저해 능력은 유지되지만, 오직 바람직한 표적, PD-1 (가령, 특히 G119D 및 G119R, 그리고 본 명세서에서 논의된 기타)에만 결합하는 단일 점 돌연변이체가 이용될 수 있다. 특히, 돌연변이체 PD-L1 Fc 융합물 단독으로 면역조정용 유용한 시약이 될 수 있다. synTac의 내용에서, 이들 돌연변이체는 다양한 PD-1 결합 친화력을 제공한다. G119D 및 G119R 돌연변이체들을 보유하는 IGRP 기반의 synTac 융합 단백질이 생산되었다.

[0369] **모듈 디자인(Modular Design):** 가용성 단가 MHC 분자들은 이들의 동족 T 세포 수용체들에 대하여 본질적으로 낮은 친화력을 가지고, 따라서 진단 또는 치료요법적 목적으로 유용한 시약은 아니었다. 이량체 MHC 복합체들은 항원 특이적 T 세포를 가시화시키기 위하여 다양한 시스템에서 이용되었지만 [39], 더 높은 항원항체결합력 MHC 사량체 및 더 높은 차수의 다량체가 더 흔하게 이용된다 [40]. 본 작업으로부터 현재 이량체 synTac 구조는 잘 폴딩된 단백질의 더 높은 발현 수준을 제공하고 표적화된 T 세포 반응을 유도하지만, 선택 경우에서 T 세포 표적화 능력을 강화시키기 위하여 원자가를 증가시킴으로써 synTac 기술을 연장시키는 것이 바람직할 수 있다. 그 목적을 위하여, IgA 및 IgM Fc 영역에서 경쇄 연계로 PD-L1 MOD를 가진 IGRP 표적화 기전을 보유하도록 다시 synTac 변이체들이 기획되었다. 이항화 다리를 통하여 J-쇄와의 공유 연합을 통하여, 상기 IgA 및 IgM 기본골격으로 각각 사량체 및 삼량체 기반 제공을 허용한다. 렌티바이러스가 생성되었고, HEK-KO 세포가 형질도입되고, 그리고 발현 테스트되었으며, 이들 시약이 발현되는 초기 능력을 뒷받침한다. 바람직한 경우, 표적화 분자에 대한 MOD의 원자가를 변화시키기 위하여 N-말단, C-말단 또는 이중 융합으로써 J-쇄에 직접 MOD를 연계시킬 수 있다. 더욱이, synTac 입체형태의 유연성 덕분에, 이중 중쇄/경쇄 연계를 이용하여 다중 펩티드 에피토프 또는 MODs를 동시에 (가령, 삼중-특이성) 제시할 수 있다. 추가적으로, 다른 MODs는 4-1BBL 그리고 활성화를 위한 항-CD28 및 저해를 위한 B7W를 포함하나, 이에 국한되지 않는다. 선택 구조체들은 추가 표적화 에피토프들을 조정할 수 있다. 더욱이, 더 높은 수준의 원자가(IgA 및 IgM)를 가진 synTac 변이체들이 이용될 수 있고, 뿐만 아니라 설명된 바와 같이 비-화학량론적으로 MODs (가령, J-쇄 연계)에 연계될 수 있다.

[0370] **실시예 2: 삼량체 SynTac 폴리펩티드의 생성**

[0371] **자극 MOD (4-1BBL) 수용체 삼량체 발현:** 활성 4-1BBL 보유 synTacs를 만들기 위한 최소 노력은 경쇄 연계 변이체를 수용하였다 (도 3a). 이는 단일 형질감염으로 발현되었고 (단일 플라스미드 상에 모든 조각들이 인코딩되며), 바이러스 P2A 서열에 의해 분열되었고, 그리고 상당히 발현된 잘-폴딩된 단백질이 되었다 (도 6b, 라인 5). 다각도 빛 산란 (MALS) 데이터와 결합된 겔 여과 프로파일은 최초 형태가 잘-폴딩된 이량체를 암시하였다 (도 10b, 도 9b에서 설명됨). 4-1BBL, TNF 패밀리 리간드는 완전한 활성을 위하여 삼량체화를 요구한다 (가령, 동일한 단백질, 동종-삼량체의 3개 복사체)는 것이 관찰되었다. 삼량체를 획득하기 위하여, "자유" 4-1BBL (친화력 태그를 가진 4-1BBL 단독 [막 기부 및 TNF 상동성 도메인들이 포함된 잔기 50-254, 도 10a; 도 9a])과 함께, 4-1BBL를 보유하는 synTac 구조체는 모두 동일한 세포에서 모두 발현되어 (가령, 공동-발현) 도 10c에서 설명된 바와 같이 고유 어셈블리 및 삼량체화를 허용한다 (검정색의 원래 synTac 구조체, 회색의 자유 BBL) (도 9a 및 도 9b 구조체들의 공동-발현). 다각도 빛 산란 (MALS) 데이터와 함께 결합된 겔 여과 크로마토그래피는 새로운 형태가 바람직한 삼량체 (도 11a-11b, synTac 번호 40 + 51로 라벨됨)라는 것을 뒷받침한다. 하기에서 설명된 바와 같이 (MOD 최적화) 4-1BBL 구조체들은 발현 및 순도 프로파일을 더 개선시키고, 안정성과 재생성을 더 증가시키기 위하여 더 최적화될 수 있다.

[0372] **자극 MOD 수용체 결합 그리고 인간/마우스 교차 반응성:** 크기 압출 후 용액 프로파일은 잘 폴딩된 단백질임을 나타내지만, 활성 분석에서 이들 시약들을 이용하기 전, 각 synTac 성분의 통합성을 입증 (상기 MHC-에피토프 표적화 기전과 MOD 모두)하는 것이 바람직할 것이다. 이 특정 표적화 기전 (뮤린 Kd에서 IGRP 펩티드)이 철저하게 입증되었고 (도 7a-7b), 따라서 4-1BBL 수용체 결합 정도가 더 조사되었다. 이를 위하여, 단백질 A 마이크로비드는 제조합 인간 또는 마우스 4-1BB-Fc 융합 단백질 (시판되는 재료로부터)로 포화되도록 피복되었다. 그 다음 4-1BB 피복된 마이크로비드는 공동조정 도메인으로써 4-1BB 리간드를 보유하는 synTac 구조체들 (이량체 및 삼량체 형태)에 결합 및 이어서 synTac 중쇄 이소타입에 특이적인 형광 탐지 항체에 결합되는데 이용되었다. 그 다음 비드-에서 생겨난(borne) 4-1BB에 대한 synTac 4-1BBL의 특이적 결합 정도는 고처리량 유동세포분석에 의해 측정된다. 이 시스템을 이용하여, 인간 및 뮤린 4-1BB에 대한 4-1BBL의 교차 반응성 및 상대적 친화력 정도는 synTac 스페르드에서 조사되었다. 4-1BBL 보유 synTacs(삼량체, 이량체로 지칭됨)는 동족 수용체에 결합되지만, 그러나 "수용체-없는" (MOD 없음으로 지칭됨) Fc 결합된 마이크로비드에는 결합하지 않는 것을 보여주었고, 이는 잘-폴딩된 그리고 활성 물질임을 암시한다(도 12). 더욱이, 고유 이량체와 이중 삼량체 연계의 경우 예측된 친화력 범위 안에서 결합된 상기 삼량체는 결합 친화력에서 10배 감소를 보이며, 다시 이량체 제공을 뒷받침한다. MOD-없는 synTac (MOD 없음으로 라벨됨)는 음성 대조로 이용되었고, 4-1BBL 수용체들에 대한 결합이

없음을 보여준다. 특히, 모든 구조체들은 뮤린과 인간 수용체들 모두에 결합하고 (교차-반응), 따라서 생체내 뮤린 시도로 직접적 연장을 허용한다.

[0373] *시험관 T 세포 자극 분석:* 4-1BBL synTacs의 활성을 테스트하기 위하여, CD8 비장세포는 8.3 TCR 유전자삽입된 NOD 마우스로부터 우선 정제되었고, 가용성 IGRP-41BBL synTac (이량체 및 삼량체) 또는 가용성 TUM-41BBL synTac (도 13)로 시험관에서 처리되기 전, 증식을 추적하기 위하여 CFSE로 형광 라벨되었다. 대조 처리는 배지 단독 또는 고정된 항-CD3이다. 배양물에서 4 일 후, 생존력 (DAPI 압출) 및 증식 (CFSE 희석)에 대하여 FACS로 세포를 검사하였다. 유동세포분석 ELISA에 의해 IFN γ 및 TNF α 수준에 대하여 상청액은 검사되었다. syntac-PDL1의 경우에서와 같이 (도 8a-8d), syntac-41BBL의 시험관 활성은 매우 항원-특이적이며, TUM-41BBL와 비교하여 syntac IGRP-41BBL 경우에 더 큰 생존력, 증식 및 사이토킨 방출을 야기한다. 예측된 바와 같이, 삼량체 4-1BBL은 완전한 활성 (가령, 증식, 생존력 및 사이토킨 방출)에 필수적이었다. 또한, IGRP-41BBL에 대한 반응은 고정된 항-CD3 기준에 대하여 호의적으로 비교되었고, 가용성 syntac-41BBL은 높은 수준의 T 세포 활성화를 조절할 수 있음을 암시한다. 본 명세서에서 설명된 모든 더 관련된 실험은 삼량체 syntac-41BBL을 이용하였다.

[0374] *생체내 T 세포 자극 - 단일 투여분량:* synTac-41BBL이 생체내에서 T 세포 활성화에 유사한 효과를 발휘하는지가 더 검사되었다. NOD 마우스는 synTac IGRP-41BBL와 synTac TUM-41BBL로 비교 처리되었고, 비장에서 IGRP 특이적 CD8⁺ T 세포의 빈도가 측정되었다. 대부분 T 세포는 정의된 클론유형인, TCR 유전자삽입된 NOD 마우스와 달리, 표준 NOD 마우스는 매우 다양한 TCR 레퍼토리를 가지며, '자연적' 면역 레퍼토리에 더 나은 것들이다. NOD 마우스는 synTac IGRP-41BBL, synTac TUM-41BBL 또는 PBS로 복막내로 주사를 맞았고, 그리고 주사 후 6일차에 희생되었다. 그 다음 비장세포는 적절한 펩티드-MHC 오량체 착색을 이용하여 IGRP-특이적 CD8 T 세포의 상대적 빈도에 대하여 유동세포분석을 통하여 검사되었다. IGRP-41BBL 치료는 대조와 비교하여 IGRP-특이적 CD8 T 세포의 훨씬 더 많은 빈도와 연합되었다. 또한, 생체내 확장된 IGRP-특이적 세포는 시험관내 다시 자극될 때 IFN γ 을 생산할 수 있었다. 이 결과는 항원-특이적 방법으로 기능적 CD8 작동체 T 세포를 확장하는 syntac-41BBL의 능력을 뒷받침한다(도 14).

[0375] *생체내 T 세포 자극 - 다중 투여분량:* 생체내 T 세포 활성화에 변경된 치료 섭생의 효과가 검사되었고, 확립된 중양 항원, "TUM" 구량체 펩티드에 대한 특별한 주목한다. NOD 마우스는 2주간에 걸쳐 3 투여분량 (기존 단일 투여분량과 비교하여)을 이용하여 synTac IGRP-41BBL와 synTac TUM-41BBL로 비교 처리되었다. IGRP- 또는 TUM-특이적 CD8 T 세포의 빈도가 결정되었다. NOD 마우스는 synTac IGRP-41BBL, synTac TUM-41BBL 또는 PBS로 복막내로 주사를 맞았고, 그리고 주사 후 7일차에 희생되었다. 혈액 (PBMC 's) 및 비장세포는 그 다음 적절한 펩티드-MHC 오량체 착색을 이용하여 IGRP- 또는 TUM-특이적 CD8 T 세포의 상대적 빈도에 대하여 유동세포분석을 통하여 검사되었다. 다시, 무관 항원 및 PBS 대조와 비교하여 IGRP-41BBL 처리는 훨씬 더 높은 빈도의 IGRP-특이적 CD8 T 세포와 연합되며, 한편 TUM-41BBL 처리는 훨씬 더 높은 빈도의 TUM-특이적 CD8 T 세포와 연합되었다(도 15). 비장에서 유사 패턴이 관찰되었다. 이들 결과는 희귀한-중양 특이적 T 세포의 항원-특이적 확장을 포함하는, 항원-특이적 방식으로 기능적 CD8 작동체 T 세포를 확장시키는 다중투여분량의 syntac-41BBL 섭생의 능력을 뒷받침한다.

[0376] *생체내 T 세포 저해:* 비-비만성 당뇨병 (NOD) 마우스에게 synTac IGRP-PDL1, synTac TUM-PDL1, 또는 PBS가 복막내로 주사되었다. 주사 후 6일 후, 체장을 해리시켰고, 적절한 펩티드-MHC 오량체 착색을 이용하여 IGRP-특이적 CD8⁺ T 세포의 상대적 빈도에 대하여 유동세포 분석을 통하여 체장 세포들이 검사되었다. 도 23에 나타난 것과 같이, IGRP-PDL1 처리는 대조 synTac TUM-PDL1-마우스 및 PBS-처리된 마우스와 비교하여, 훨씬 더 낮은 빈도의 IGRP-특이적 CD8⁺ T 세포와 연합되어 있었다. 이들 데이터는 synTac의 단일 투여분량 후 생체내 항원-특이적 고갈을 설명한다.

[0377] *MOD 최적화:* 실험 과정에 걸쳐, 대부분의 상기 표적 단백질 (4-1BBL 삼량체 synTac)은 크기 압출 크로마토그래피에서 더 높은 차원의 다량체 특징을 나타내었음이 관찰되었고, "자유" BBL의 방출/교환같은 것을 통하여 시간에 따라 분해될 것이다. 따라서 4-1BBL의 공유적 어셈블리의 강조와 함께 증가된 안정성 및 생산 용이성을 가진 4-1BBL 기본골격을 찾았다. 그 목적을 위하여, 상기 4-1BBL의 TNF 상동성 도메인 안에 조작된 이황화 결합의 용도(도 16a; 이황화는 화살표로 나타낸다; 도 9c-9e)가 조사되었다. X-선 구조의 분석(PDB 2X29)으로부터, 이황화 결합 능력을 가질 것 같고, 수용체 결합과 간섭을 하지 않을 것 같은 3개의 잠재적 잔기 쌍들이 선택되었다. 각 구조체 안에 2개의 고유의 잔기는 시스테인 잔기 (Q94C:P245C, Q94C:P242C, 및 Q89C:L115C, 각각 synTac 69, 70 및 71로 명명됨)로 대체되었고, 공유적 로킹을 허용하기 위하여 동일한 돌연변이(차례로 98, 99,

100)를 가지는 "자유" 태그안된 형태가 인간 세포에서 발현되고, 이황화 결합 정도는 비-환원된 SDS PAGE 분석 (도 18; 다음의 공동-발현 구조체들은 DL1 (이황화 잠금-1, synTac 69/98), DL2 (70/99) 및 DL3 (71/100)로 명명된다). 3개 구조체들은 모두 잘 발현되었고, 이황화 로킹을 허용하였으며 (도 18), 그리고 수용체에 결합되었다 (도 17). 이들 synTac-4-1BBL의 공유 "이황화-잠금(disulfide-locked)" 변이체들은 논의된 안정성 문제를 해결하였지만, 자극 synTacs의 생산 및 생체제작을 복잡하게 할 수 있는 삼량체화를 허용하기 위하여 여전히 "자유" BBL (공동-발현)의 공동-발현이 요구된다. 이러한 장애에 대한 한 가지 해결책은 단일쇄 삼량체 (4-1BBL-SCT, 도 16B; 도 9F)로 명명된 단일 인접 구조체로써 4-1BBL TNF 상동성 도메인의 발현인 것으로 밝혀졌다. 특히, 4-1BBL 잔기 80-246 (오직 TNF 상동성 도메인)의 3개 복사체는 2개의 (G4S)₅ 링커 서열에 의해 공유적으로 유지되어있었다 (도 16b, 곡선으로 설명된 링커; 도 9f). 발현 및 다각도 빛 산란 (MALS) 데이터와 결합된 겔 여과는 새로운 형태는 바람직한 공유 단일쇄 삼량체 (도 18)이며, 4-1BBL 수용체에 잘 결합된다는 것을 뒷받침한다 (도 17).

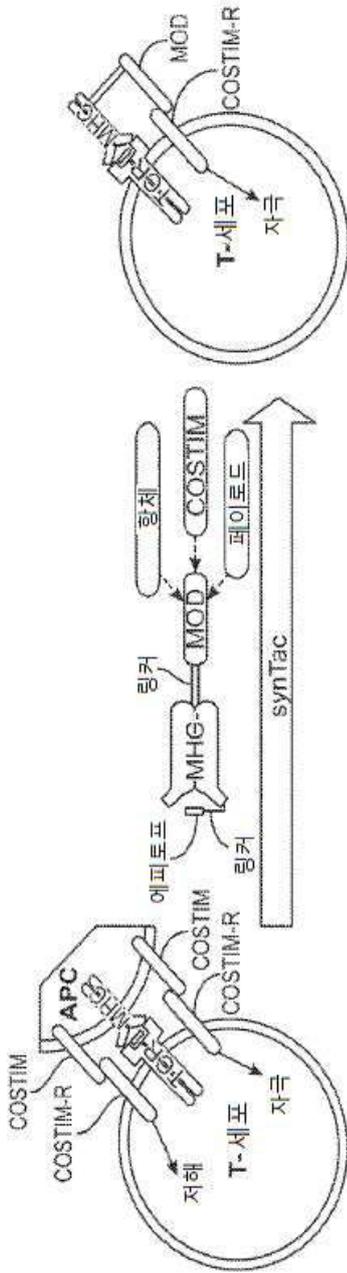
[0378] 본 발명은 이의 특이적 구체예들을 참고하여 설명되지만, 당업자는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변화가 만들어질 수 있고, 이의 등가로 치환될 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 본 발명의 목적, 사상 및 범주에 특정 상황, 물질, 문제의 조성물, 공정, 공정의 단계 또는 단계들을 적응시키기 위하여 많은 변형이 있을 수 있다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범위 안에 속하는 것으로 의도된다.

[0379] **참고자료**

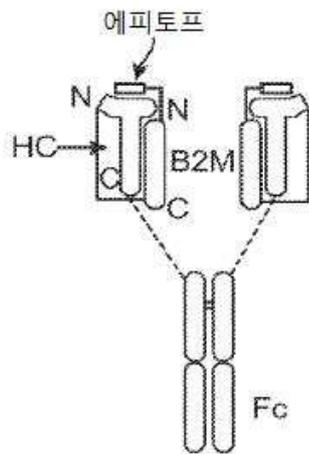
[0380] 1. Kling, (2009) Nature Biotechnology, 2009. 27:11-12; 2. Wollheim (2002) Expert Opinion in Investigational Drugs, 11(7): 947-953.; 3. Mansh (2011) Yale J Biol Med, 84(4):381-389; 4. Scarpati et al (2014) OncoTargets and Therapy 7:203-209; 5. Rhodes (2007) Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 27(1):19-30; 6. Amos et al. (2011) Blood. 118(3):499-509; 7. Hodi et al. (2010) New England Journal of Medicine. 363: p. 711-723; 8. Goldberg (2011) Cancer Immunology and Immunotherapy 344:269-278; 9. Kwon (2012) Molecular Cancer Therapeutics, 11:1062-1070; 10. Vitale et al. (2012) Clinical Cancer Research 18(14):3812-3812; 11. Ngiow et al. (2011) Cancer Research, 71(10):1- 12; 12. Robins et al. (2010) Sci Transl Med, 2(47):47ra64; 13. Reichert (2011) MAbs, 2011. 3(5):415-416; 14. Weiner (2010) Nature Reviews Immunology 10:317-327; 15. Senter (2013) Annual Review of Medicine, 64:15-29; 16. Chames (2009) MAbs 1: 539-547; 17. Jakobsen (2013) OncoImmunology, 2(2):e22891; 18. Sharma, et al. (2014) Immunologic Research, 58(1):132-138; 19. Wu et al. (2007) Nature Biotechnology, 25: 1290-1297; 20. Dimasi et al. (2009) Journal of Molecular Biology, 393(3):672-692; 21. Grupp, (2011) Cancer Immunology and Immunotherapy, 244:149-172; 22. Xu (2014) Cancer Letters, 343(2):172- 178; 23. Suzuki et al. (2010) Journal of Immunology, 184(4):1968-1976; 24. Sun (2014) Journal of Pharmaceutical Sciences 103(1):53-64; 25. Lo et al. (1998) Protein Engineering 11(6):495-500; 26. Flanagan et al. (2007) Methods in Molecular Biology 378:33-52; 27. Yu et al. (2002) Journal of Immunology 168(7):3145-4149; 28. Hezareh (2001) Journal of Virology 75(24):12161-12168; 29. Kim et al. (2011) PlosOne 6(4):e18556; 30. Yan et al (2014) Methods in Molecular Biology 1114:245-267; 31. Kim et al. (2010) Journal of Immunology 184:4423-4430; 32. Kozono et al. (1994) Nature 369:151-154; 33. Truscott et al. (2007) Journal of Immunology 178:6280-6289; 34. Kellenberger (2005) Journal of Immunology 175:3819-3825; 35. Marrack et al. (2008) Annual Reviews of Immunology 26:171-203; 36. Wang and Margulies (2009) Journal of Immunology 183(4):2554-2564; 37. Samanta et al. (2011). Proc Natl Acad Sci U S A, 108(33):13682-13687; 38. Zheng et al. (1998) Proc Natl Acad Sci U S A, 95:6284-6289; 39. Schneck, J.P., Slansky, J., O'Herrin, S., Greten, T.F., *Use of MHC - Ig dimers for visualizing antigen specific T cells.* Current Protocol in Immunology, 1999: p. 173; 40. Altman, et al. (1996) Science, 274:94-96.

도면

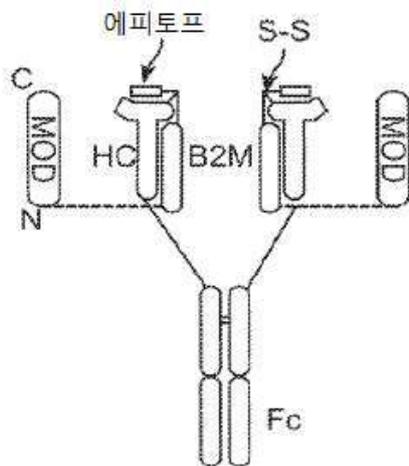
도면1



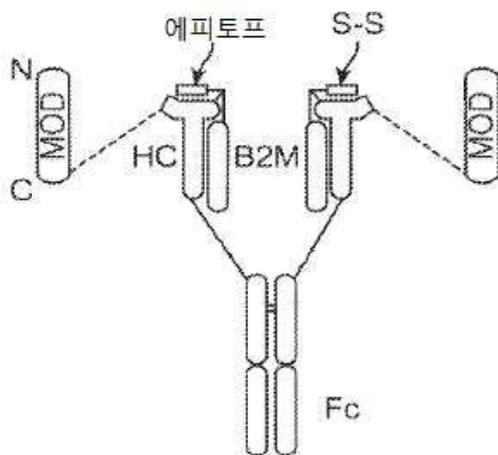
도면2a



도면2b



도면2c



도면3a

경쇄 (LC)

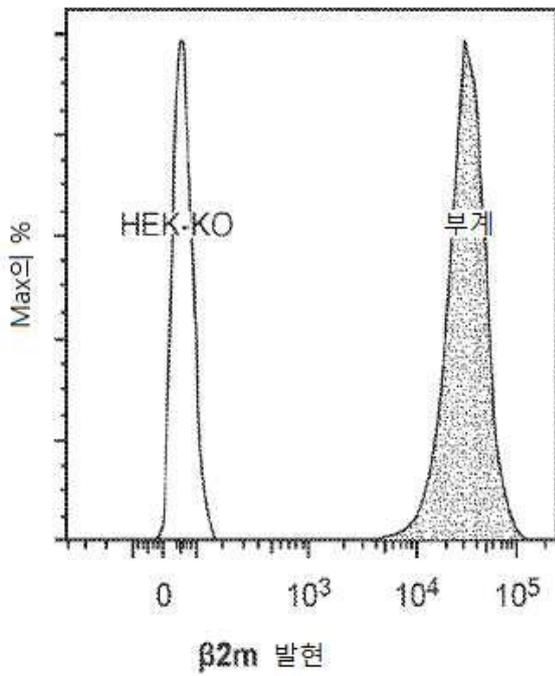


도면3b

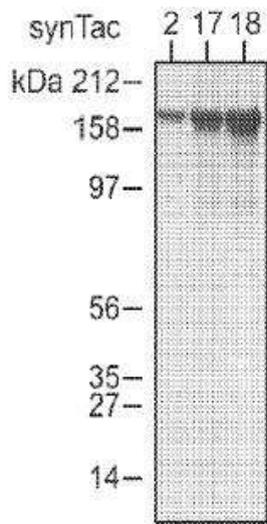
중쇄 (HC)



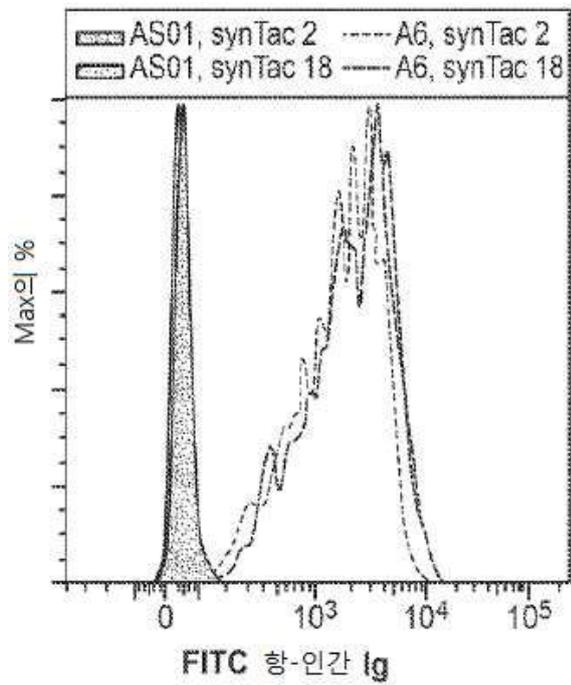
도면4



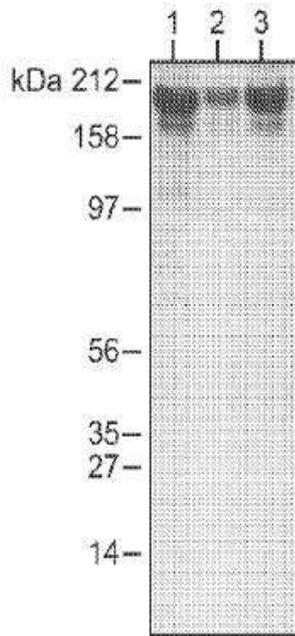
도면5a



도면5b



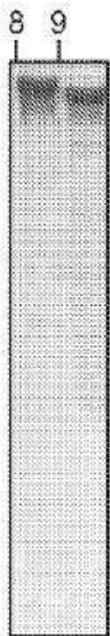
도면6a



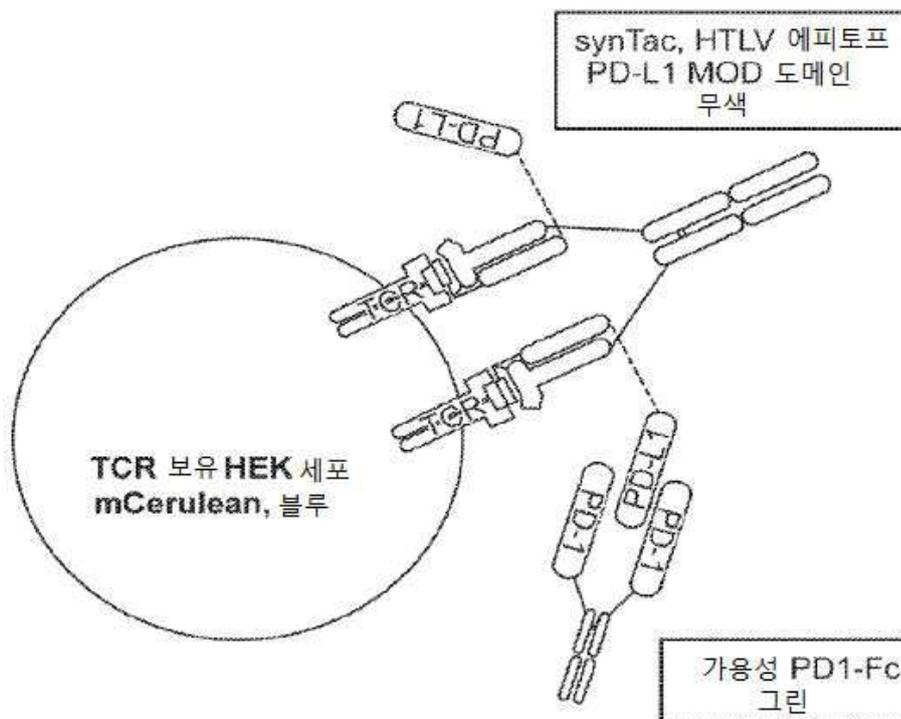
도면6b



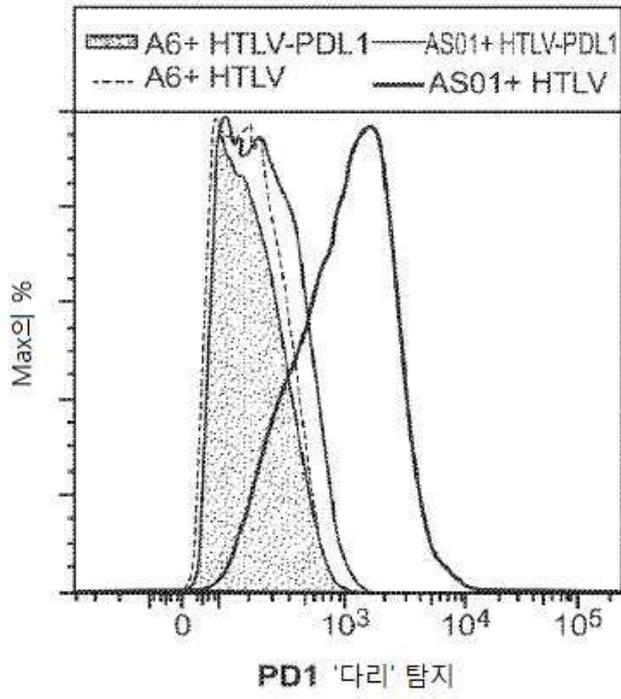
도면6c



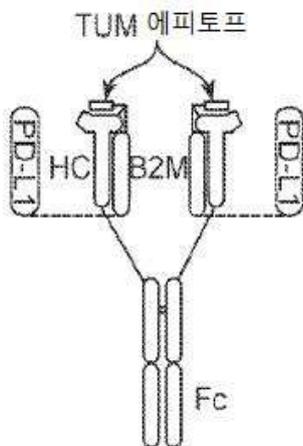
도면7a



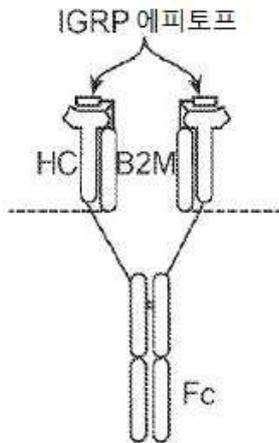
도면7b



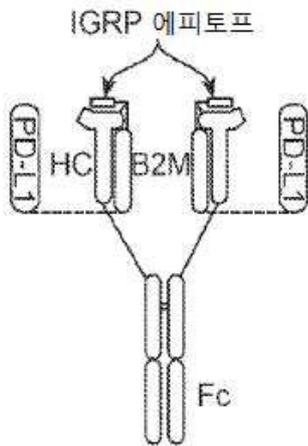
도면8a



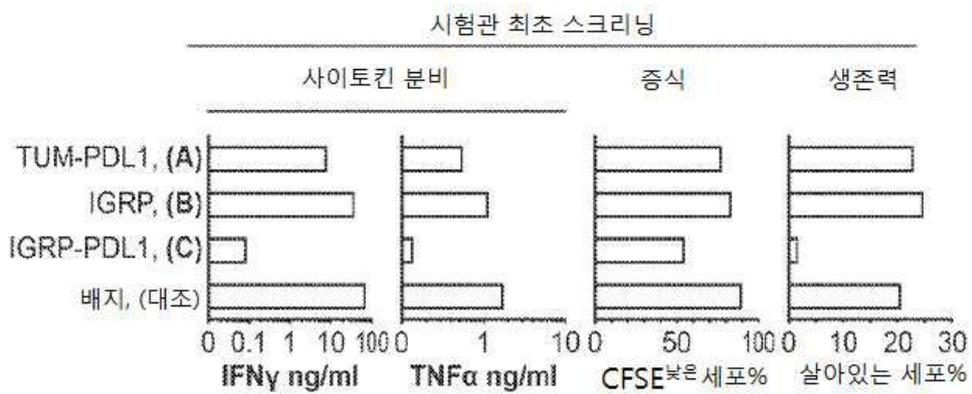
도면8b



도면8c



도면8d



도면9a

synTac 51 - 자유 BBL (서열 번호:69)
 MSRSVALAVLALLSLSGLEACPWAVSGARASPGSAASPRRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGL
 SYKEDTKELVVAKAGVYVYVFFQLELRVAVAGEGSGVSLALHLQPLRSAAAGAAALATVDLPPASSEARNSEAFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEA
 RARHAWQLTQGATVGLGLFRVTPEIPAGLPSRSE

굵은 글씨: 베타 2-마이크로글로블린 리더 펩티드
 굵은 이탤릭체: 인간 4-1BBL, 잔기 50-254 (전체 역토포메인)

도면 9b

synTac 40 : 이람체 BBL (서열 번호: 70)
 MSRSVALAVLALLSLGIEAYLKTNVELGcGASGGGGGGMIQKTPQIVYSRHPPENGKPNILNCYVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIPKIVEMSD
 MSFSKDW5FYLAHTEFTPTETD TYACRVKCHASMAEPKTYWDRDMGCGGGGGGGGGGGGACWPWAYSGARASPGSAASPRLRFG
 PELSPDDPAGLLDLRQMFQAQNVLLHDGPI.SWYSYDPGLAGVSL7GGLSYKEDTKELVWAKAGVYVYVFFQLELRVAVAGEGSGVSLAHLIQP
 LRSAGAAALALTVDLLPPASSEARNSAFQGRLLHLSAQRLGVHLHTEARARHAWQLTQGGATVVLGFRVTEIPAGLPSRSESGSGATNESLL
 KOAGDVEENPGEPMRSVALAVLALLSLGIEAGPHSLRVFTAVSRPGLGEPREFAVGYVDDTQFVRFDSADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
 WEEQTORAKSDFQWERYSLRTAQRcYNOQSKGSHITFORMFGCDYGDWRLLRGYOOEAYDGRDYALNEDLKTWTAAADTAALITRRKM
 EOAGDAEYRYAYLEGCVEWLRRYLELGNETLRTDSPKAHVYHPRSOVDVTLRCWALGYPADITLWOLNGEDLTODMELVETRPA
 GDGTFOKWAAVWVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLLRWAAAGGPRGPTIKPCPPCKCPANLLGGSPVIFPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD
 YSEDDPDIOWISWEVNVVHTAQTOTHREDYNSTLRVYSALPIOHODWMSGKEFKKVNNDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEFEEMT
 KKQVTLTCMVTDMPEDIYVETWNNKTELYKNTPEVLDSDGSYEMYSKLRVKKVWERNYSYGVVHEGLHNHHTTKFSRTPGKGGSHH
 HHHHHH

굵은 글씨: 베타-2-마이크로globولين 리더 펩티드
 밑줄: 표적화 에피토프 (IGRP), TUM 대조 펩티드는 KYQAVTTTL (서열 번호: 18) 이다
 이태리체 : 무린 베타-2-마이크로globولين
 굵은 이태리체: 인간 4-1 BBL, 잔기 50-254 (전체 엑토도메인)
 이태리체 밑줄: 바이러스 P2A 서열
 굵은 밑줄: 무린 HLA 중쇄 (H-2 K^b),
 굵은 밑줄 이태리체: 무린 IgG2a Fc, 이어서 8x HIS 테그
 Y84C 돌연변이 (소문자)

도면9d

synTac 70 - Q94와 P242C 사이에 형성된 이황화 다리(서열 번호:73)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVYLKTNVFLGcGASGGGGMIQKTPQIYYSRHPPENgKPMILNCYVTQFHPPHIEIQMLKNGKKKPKVEMSD
 MSFSKDWSEFYLAHTEFTPTTETDYYACRVKHASMAEPKTVYWRDMGGGGGGGGGGGACPWAVSGARASPGSAASPRLREG
 PELSPPDPAGLLDLRQGMFACLVAQNVLIDGPLSWSDPGLAGVSLTGGLSYKEDIKELVYAKAGVYVFFQLELRVVAAGEGSGSVSLALHLQP
 LRSAGAAALALTYDLPPASSEARNsAFQGRLLHLSAGQRLVHLHTEARARHAWQLTQGATVILGLFRVTcEIPAGLPSRSESGGATNESLL
 KOAGDVEENPGPMRSRVALAVLALLSLSGLEAGPHSLRYFVTAVSRPGLGEPFRFIavgvVDDTQFVRFDSADADNPRFEPRAPWMEQEGPEY
 WEEQTORAKSDEQWFRVSLRTAORcYNOSKGGSHITORMFGCDVGDWRLLRGYQQAAYDGRDVIAlNEDLKTWTAADTAALITRRKW
 EQAGDAEYRAYLEGECEVWLRRLYELGNELRTDSPKAHVTYHPRSQVDVTLRCWALGFYPADITLTWQLNGEDI.TODMELVETRPA
 GDGTFOKWAAVVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTRWAAAGGPRPTIKPCPCPKCPAPNLLGGPSVFEPKIKDVLMSLSPIVTCVVVD
 YSEDDPDIOWISWVANNVEVHTAQIOTHREDYNSTLRVVSALPIQHODWMSGKEFKKVNKKDIPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVILPPPEEMT
 KKQVTLICMYTDEMPEDYVWNTNGKTEIANYKNTEPVLDSGYEMYSKLRVEKKNWYVERNYSYCSYVYHGLHNHHHTTKFSRTPGKGGSHH
 HHHHHHH

굵은 글씨: 베타-2-마이크로globulin 리더 펩티드
 밑줄: 표적화 에피토프 (IGRP), TUM 대조 펩티드는 KYQAVTTTL (서열 번호:18) 이다
 이태리체: 무린 베타-2-마이크로globulin
 굵은 이태리체: 이황화 잠금 (DL)-인간 4-1BBL 잔기 50-254 (전체 엑토도메인), Q94C-P242C 이종 돌연변이체-돌연변이는 소문자로 나타남

이태리체 밑줄: 바이러스 P2A 서열
 굵은 밑줄: 무린 HLA 중쇄 (H-2 K^b)
 굵은 밑줄 이태리체: 무린 IgG2a Fc, 이어서서 8x HIS 태그
 Y84C 돌연변이 (소문자)

자유-DL-4-1BBL과 동일 돌연변이를 가진 synTac의 공동 발현에 의해 형성된 이황화 잠금(DL) 삼량체 (서열 번호:74)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAAcPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMFAcLVAQNVLIDGPLSWSDPGLAGVSLTGGL
 SYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRVVAAGEGSGSVSLALHLQLRSAGAAALALTYDLPPASSEARNsAFQGRLLHLSAGQRLVHLHTEA
 RARHAWQLTQGATVILGLFRVTcEIPAGLPSRSE

도면9e

synTac 71 - 잔기 Q89C와 L115C 사이에 형성된 이황화 다리(서열 번호: 75)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVYLKTNVELGcGASGGGGGGMiQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCVVTQFHPPHIEIQMLKNGKKIKVEMSD
 MSFSKDWSTLHTEFTPTETTYACRVKIASMAEPKTVYWRDMGCGGGGGGGGGGSAcPWAVSGARASPCGSAASPRLREG
 PELSDDPAGLLDLRCGMFAQLVAQNVLIDGPLSWTSDPcAGVSLTGGLSVKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRRVVAAGEGSGSVLALHLQP
 LRSAGAAALALTYDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRGLVHLHTEARHAWQLTQGAIVLGLFRVTPeICAGLPSRSESGGATNFSLL
 KOAGDVEENPEGEMSRVALAVLALLSLSGLEAGPHSLRYEVTAVSRPGLGEPRIAGVYVDDTQFVRESDADNPFEPRAPWMEQEGPEY
 WEEOTQRAKSEQWERVSRVSLTAORCYNQSGGSHTEFORMFGCDVGSWRLLRGYOOFAFDGRDYALNEDLKTWTAADTAALITRRKW
 EOAGDAEYRYAYLEGECEVWELRRYLELGNETLLRTDSPKAHVTYHPRSOVDTLRGWALGEPADHLLTWQNGEDLTODMELVETRPA
 GDGTFOKWAAVYVPLGKEQNYTCHVHHKGLPEPLTRWAAAGcPRGTTIKPCPPCKPAPNLLGGPSVEIFPPKDYLMISLSPVITCVYVD
 VSEDDPPVQISWFEVNNVEVHTAQOTHREDYNSTRVVSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMT
 KKQVTLTCMVTDEMPEDYVVEWTNNGKTELYKNTEPVLDSDGSEYEMYSKLRVYKKNWVERNSYSVYVHEGLLHNHHTTKSFKTPGKGGSHH
 HHHHHH

굵은 글씨: 베타-2-마이크로글로불린 리더 펄티드

밑줄: 표적화 에피토프 (IGRP), TUM 대조 펄티드는 KYQAVTTTL (서열 번호: 18) 이다

이태리체: 무린 베타-2-마이크로글로불린

굵은 이태리체: 이황화 잔금 (DLI)-인간 4-1BB1 잔기 50-254 (전체 엑토도메인), Q89C-L115C 이중 돌연변이체-돌연변이는 소문자로 나타냄

이태리체 밑줄: 바이러스 P2A 서열

굵은 밑줄: 무린 HLA 중쇄 (H-2 K^b)

굵은 밑줄 이태리체: 무린 IgG2a Fc, 이어서 8x HIS 태그

Y84C 돌연변이 (소문자)

자유-DL-4-1BB1과 동일 돌연변이를 가진 synTac의 공동 발현에 의해 형성된 이황화 잔금(DLI) 삼량체 (서열 번호: 76)

MSRSVALAVLALLSLSGLEAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRCGMFAQLVAQNVLIDGPLSWYSDPGcAGVSLTGGL
 SYKEDTKELVVAKAGVYVFFQLELRRVVAAGEGSGSVLALHLQLRSAGAAALALTYDLPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRGLVHLHTEA
 RARHAWQLTQCATVGLFRVTPeICAGLPSRSE

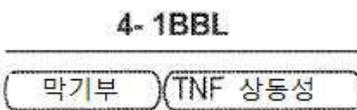
도면9f

단일쇄 삼량체, synTac 4-1BBL-SCT (서열 번호:77)

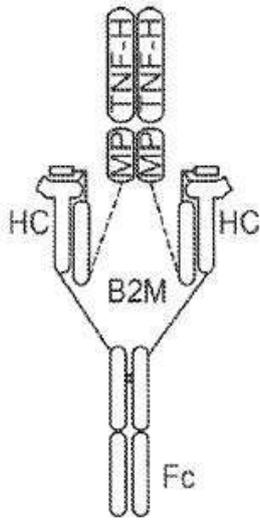
MSRSVALAVLALLSLGLEAVYLKTNVELGcGASGGGGSMIQKTPQIQYVSRHPPENGKPNILNCYVVTQFHPHHEIQMLKNGKKIPKIVEMSD
 MSFSKDWFSYLLAHTTEFTTDTYACRVKHIASMAEPKTVYWRDRMGCGSGGGGGGGSDPAGLLDLRQGMFAQLVAQNVLII
 DGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRVAVGEGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
 QGRLLHLSAQQRIGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPPEIPAGGGSGGGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
 DGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVAKAGVYVFFQLELRVAVGEGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
 QGRLLHLSAQQRIGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPPEIPAGGGSGGGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
 QGRLLHLSAQQRIGVHLHTEARARHAWQLTQGATVGLFRVTPPEIPAGGGSGGGSGVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVDLPPASSEARNSAFGF
 RYFVTAVSRPGLGEPRIAVGVYDDTQFVREDSADNPRFEPRAVWMEQEGPEYVEEOTQRAKSDQWFRVSLRTAORCYNOSKGGSHI
 FQRMFGCDYGSDWRLRGYQOFAYDGRDYIALNEDLKTWTAADTAALHTRRKKWQAGDAEYRAYLEGECEVWLRYYLELGNETLLRTD
 SPKAHVTYHPRSQVDYTLRCWALGEYPADITLTWQLNGEDLTQDMELVETRPAGDGTFOKWAAVVYVPLGKEONYTCHVHHKGLPEPLT
 LRWAAAGGPRGPTIKPCPPCKPAPNLLGGPSVFIPPKIKDVLMSLSPIVTCVVVDVSEDDPDPQISWFWVNNVVEVHIAQIQTHREDYNSLRY
 VSALPIQHODWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTHSKPKGSVRAPOVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDYVVEWTNNGKTELNYKNT
 PVLDSGGSYEMYSKLRVEKKNWVERNSYSCVVHEGLHNHHTTKSESRTPGKGGSHHHHHHHH

굵은 글씨: 베타-2-마이크로글로블린 리디, 펩티드
 밑줄: 표적화 에피토프 (IGRP), TUM 대조 펩티드는 KYQAVTTTL (서열 번호:18) 이다
 이태리체: 무린 베타-2-마이크로글로블린
 굵은 이태리체: 단일쇄 삼량체 (SCT)-인간 4-1BBL, 잔기 80-246 TNF 상동체 도메인, (G4S)₅ 링커-소문자
 이태리체 밑줄: 바이러스 P2A 서열
 굵은 밑줄: 무린 HLA 종쇄 (H-2 K^b)
 굵은 밑줄 이태리체: 무린 IgG2a Fc, 이어서서 8x HIS 테그
 Y84C 돌연변이 (소문자)

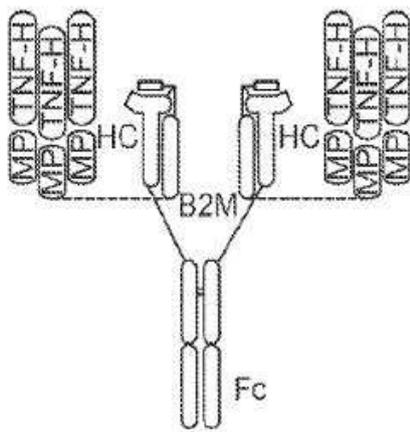
도면10a



도면10b



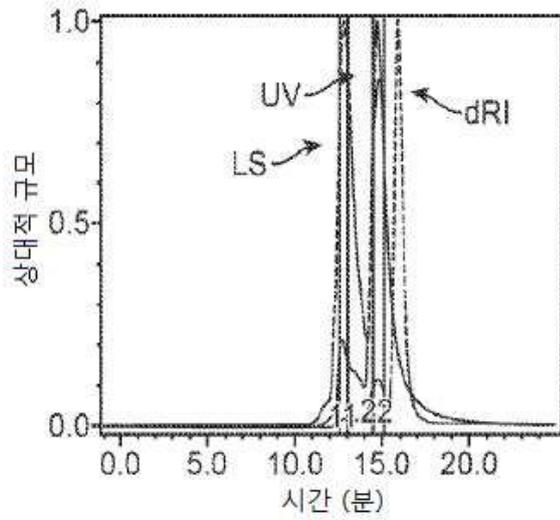
도면10c



도면11a

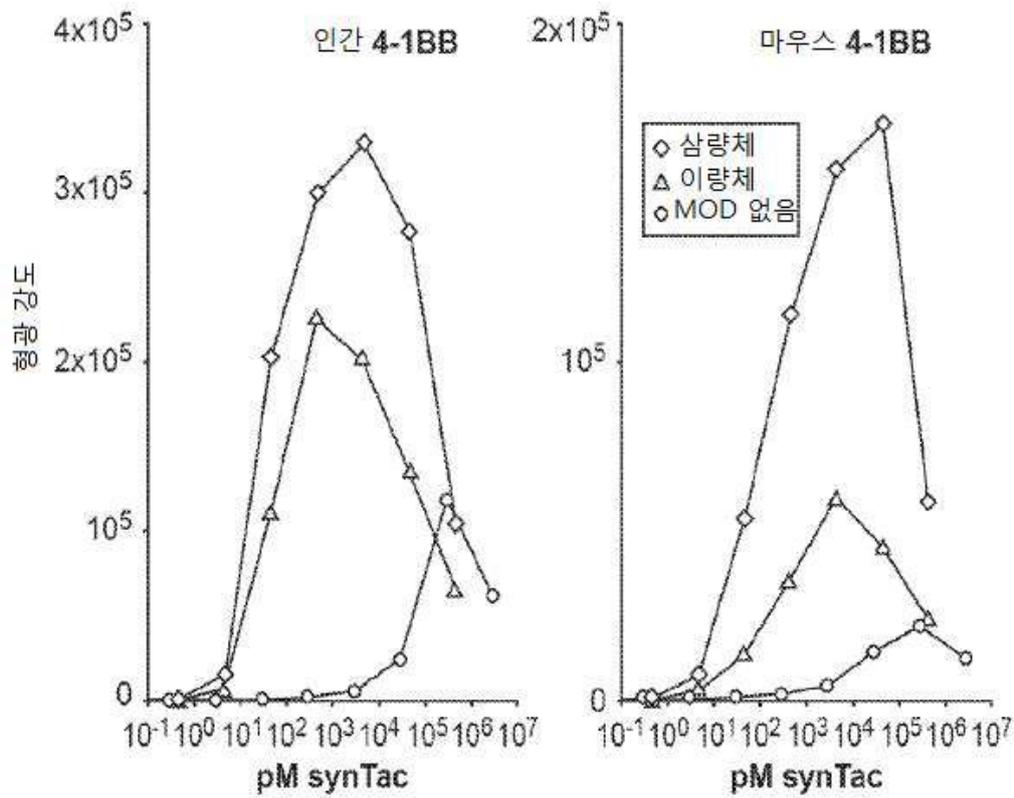
Syntac #	분자량 (kDa±%)
40+51	236.2 (±4.9%)
40+51	257.9 (±0.5%)

도면11b

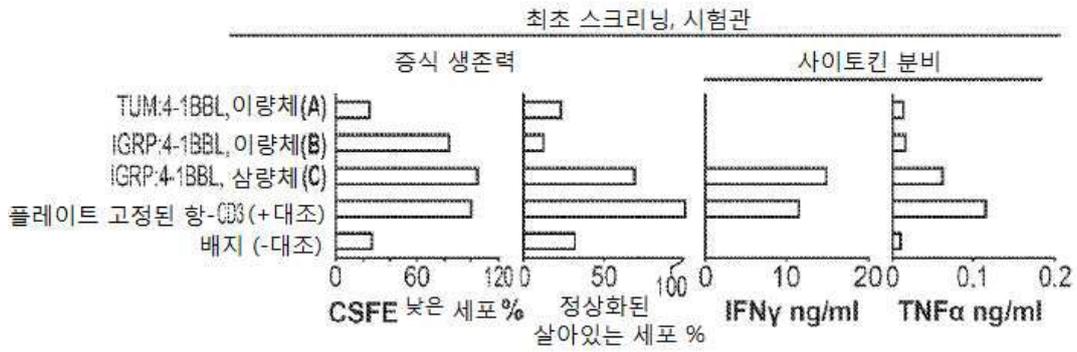


도면12

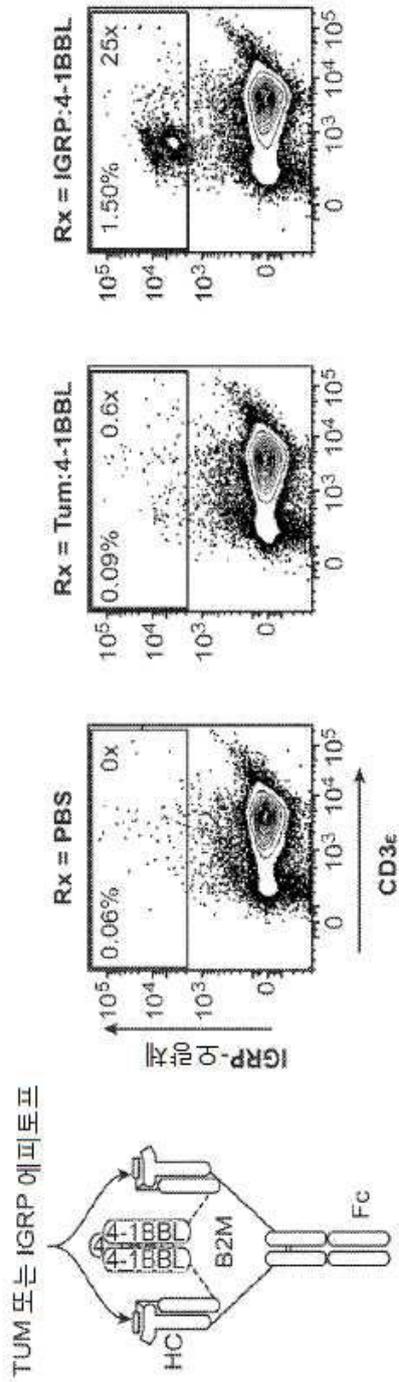
synTac 4-1BBL 변이체들, 비드 결합



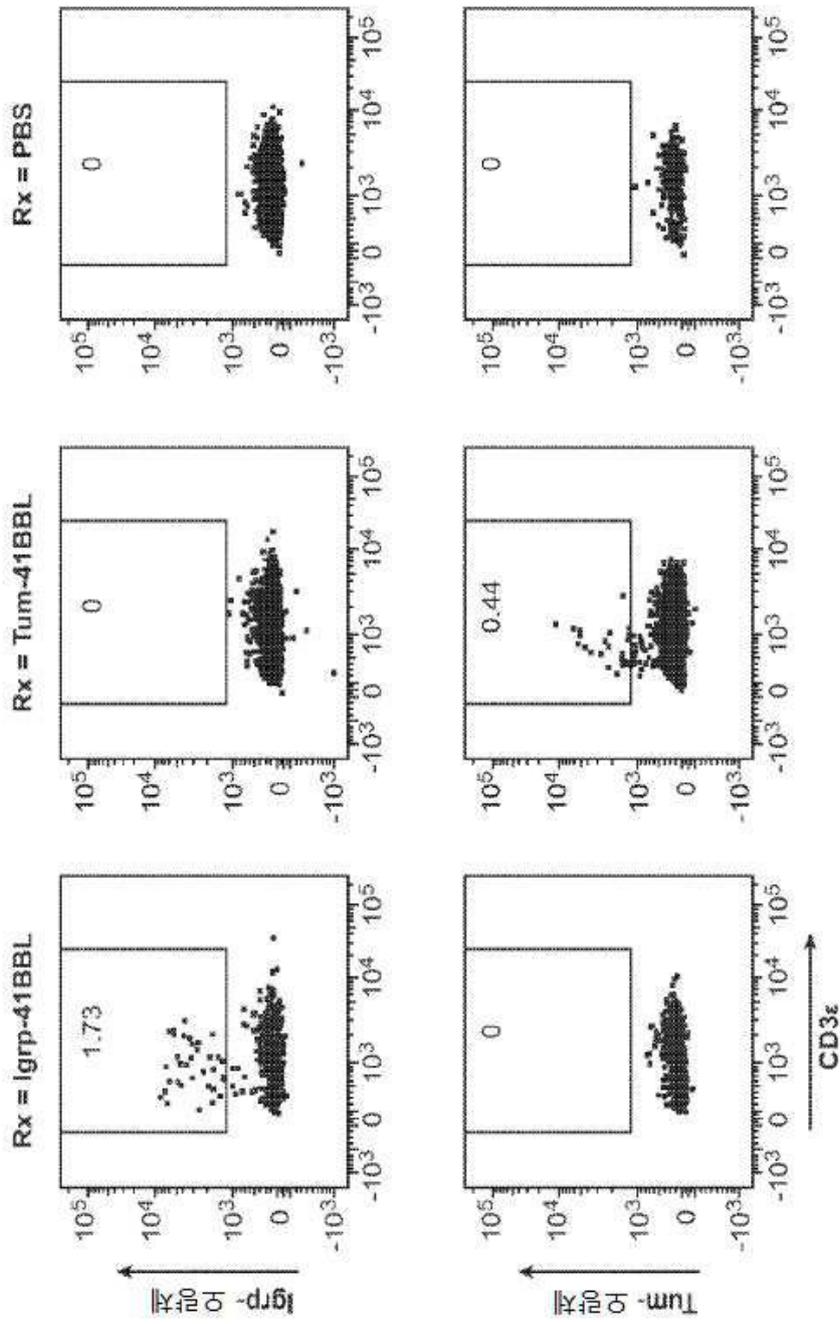
도면13



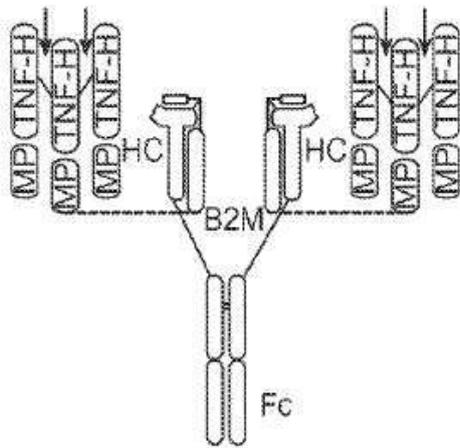
도면14



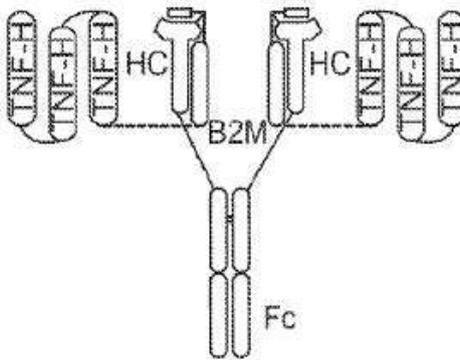
도면15



도면16a

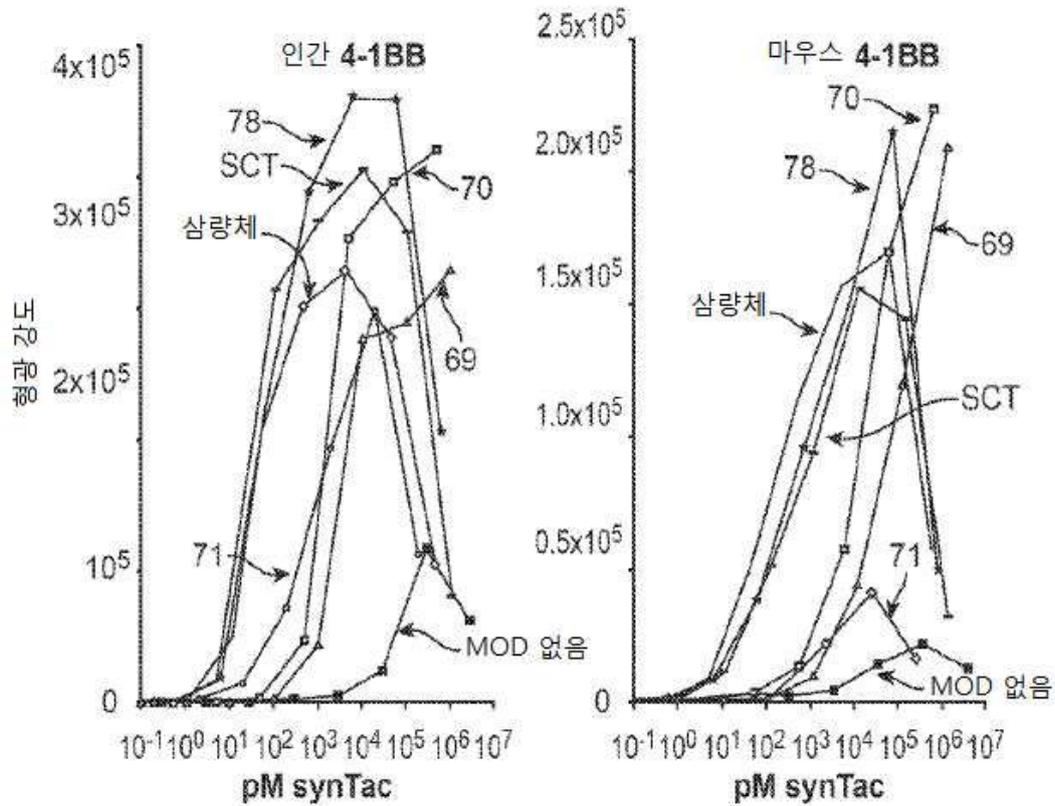


도면16b

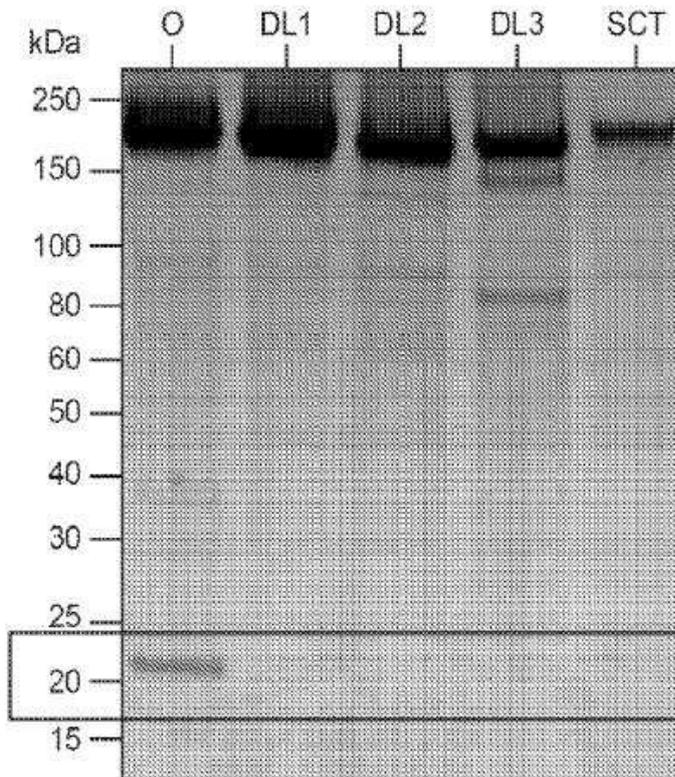


도면17

synTac 4-1BB 이황화 변이체, 비드 결합



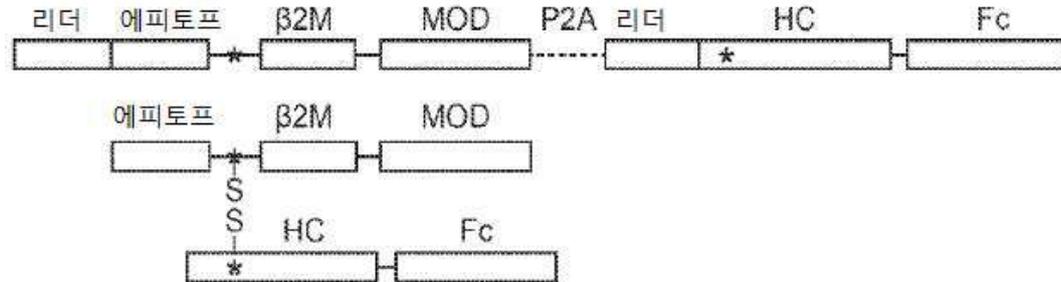
도면18



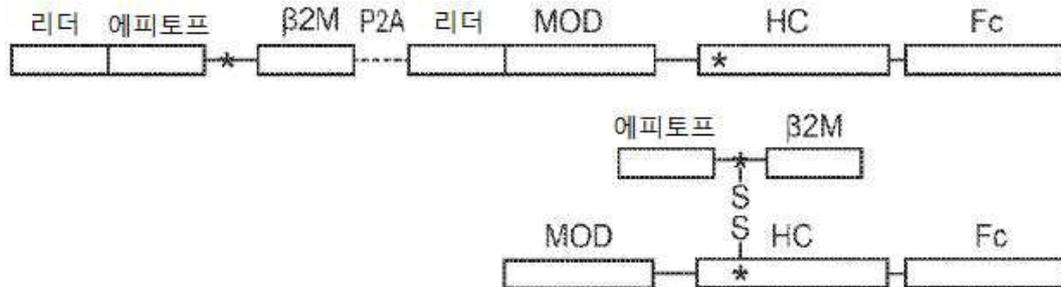
도면19a



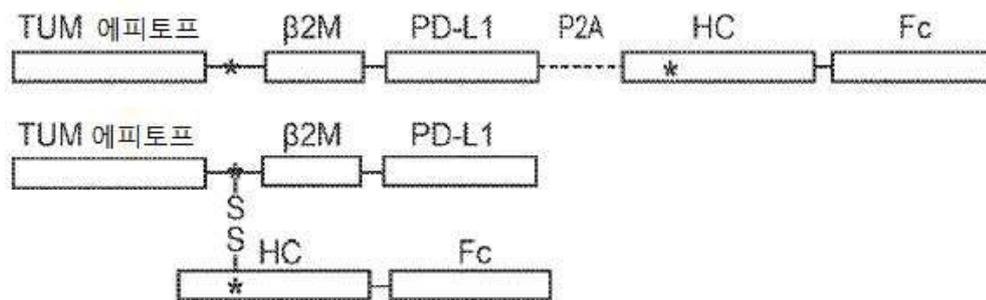
도면19b



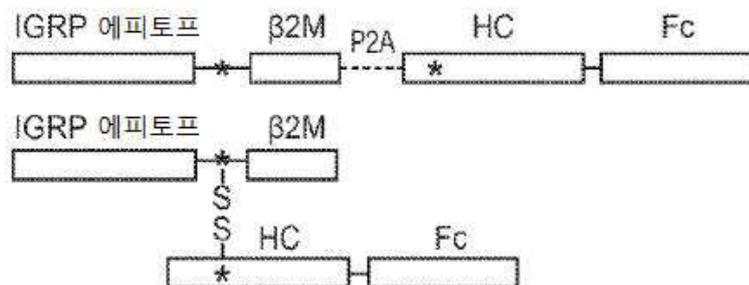
도면19c



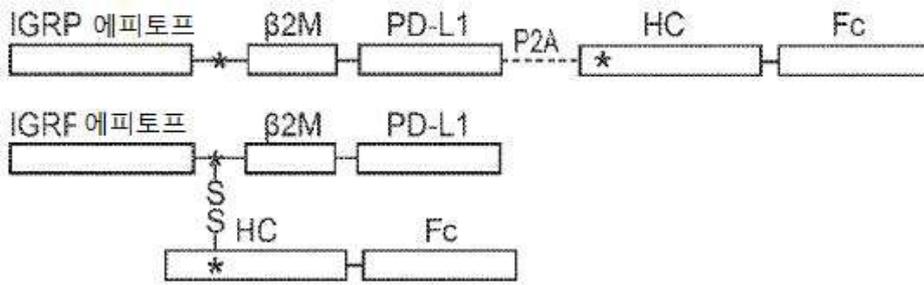
도면19d



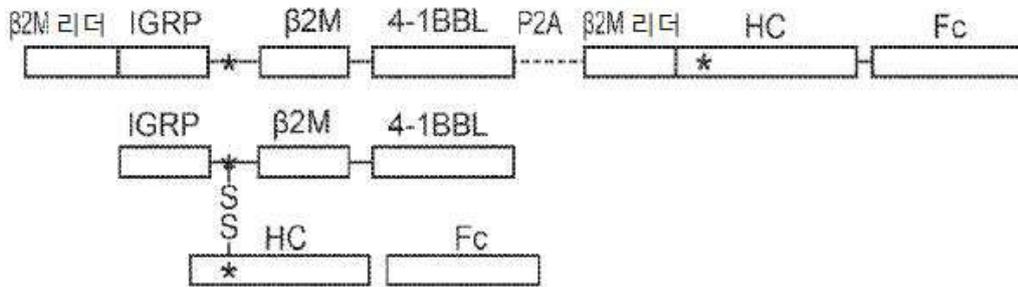
도면19e



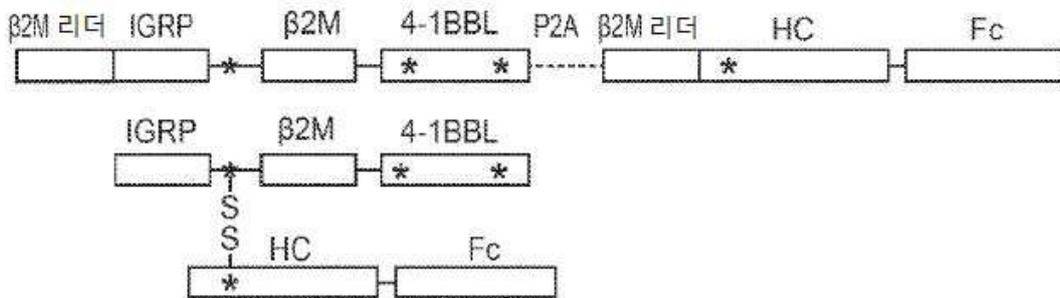
도면19f



도면19g



도면19h



도면19i



도면20

```

NP_004039.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_001009066.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_001040602.1 MSRSVALAVLALLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHFSDIEVDLL 60
NP_776318.1 MAREVALVLLGLSLSGLEAIQRTPKIQVYSRHPPEEDGKPNYLNCYVYGFHPPQIEVDLL 60
NP_033865.2 MARSVTLVFLVLSLTGLYAIQRTPKIQVYSRHPPEENGKPNILNCYVTQPHFPHETIQML 60
    *:* *:* * *:*:* *:* *:*:*:* *:*:* *:*:* *:* *:* *:*:*
    
```

```

NP_004039.1 KNGERIEKVEHSDLSFSKQWSFYLLYTEFTPTTEKDEYACGVNHVTLISQPKIVWDRDM 119 (서열 번호: 76)
NP_001009066.1 KNGERIEKVEHSDLSFSKQWSFYLLYTEFTPTTERDEYACGVNHVTLISQPKIVWDRDM 119 (서열 번호: 79)
NP_001040602.1 KNGEKMGKVEHSDLSFSKQWSFYLLYTEFTPTNEKDEYACGVNHVTLISGPPVWDRDM 119 (서열 번호: 80)
NP_776318.1 KNGEKI-KSEQSOLSFSKQWSFYLLYEAFTPNKRDQYSCVKEHVTLISQPKIVWDRDL 118 (서열 번호: 81)
NP_033865.2 KNGKIKVWESDMSFSKQWSFYLLAETFTPTTEIDTYACRVKHASMAEPPKIVWDRDM 118 (서열 번호: 82)
    **:*:* * *:*:*:*:*:*:* * ::*:* *:* *:*:*:*:* *:* * *:*:*
    
```

도면21

서열 번호:6의 재조합 폴리펩티드 구조체의 도메인 구조:

LLEGYPVYVcGGGGGGGGGSGJQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSGFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWFSVZLLYYTFPTTEKD
 EYACRVNHVTLTSQLKVKWDRDMGGGGGGGGGGGSGGGGSGGGGFTITAPKDLVVEYGSNVTMECRFPVERELDILALVYVWKEDEQVIQFVAGE
 EDLKPQHSNFRGRASLPKDQLKGNAAALQHTDVKLQDAGVYCCISYGGADYKRTILKVNAPYRKINQRISYDPAATSEHELICQAEQYPEAEVIVWT
 NSDHQPVSGKRSVTTSRTEGMLLNVTSLSRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNHAEIHELPELPAHPPPQNRVTSGGGATNESLLKQAGDVEENPGGPM
 SRSVALAVLALLSLSGLEAGSHSMRYVFTSVSRPGRGEPFRFIAVGVYDDTQVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKKVKAHSQ
 THRVDLGTLRGcYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWRFRLRGYHQYAYDGKDVIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQLRAY
 LEGTCVWLRRLRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVSDHEATLRCWALSFPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVEVTRPAGDGTFFQKWAAY
 VVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPAAGGDKHTPCPCPELGGPSVELEPPKPKDTLMSRTPVTCVYVDVSHEDPEVKEWVY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKYSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPOVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
 YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQVEVCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSHHHHHHHHH

이중 밀줄 굵은 글씨: HTLV-1 에피토프
 밀줄: 링커(시스템인 변형 - 소문자)
 이태리체: B2M 도메인
 굵은 이태리체: 마우스 PD-L1 도메인
 밀줄 이태리체: P2A 자가-절단 펩티드
 굵은 밀줄: B2M 리더 서열
 굵은 글씨: 인간 종쇄 (시스템인 변형 - 소문자)
 굵은 이태리체: 밀줄: 인간 Fc
 이중 밀줄: His 태그

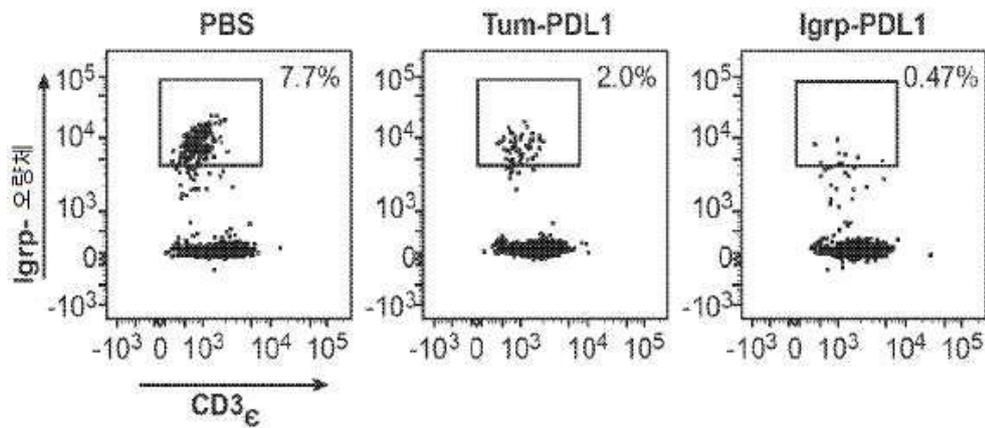
도면22

서열 번호: 7의 제조할 폴리펩티드 구조체의 도메인 구조:

LLFGYPVYVcGGGGGGGGGGGSIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCVYSGFFHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDW/SFYLLLYTEFTPTTEKD
EYACRVNVHTLSQPKVKWDRDMGGGGGGGGGGGGGSGGATNESLLKQAGDYEEENPGMSRSYALAVLALLSGLLEAFTITAPKDLVY
VEYGSNVTMECRPPVERELDLALVVYWEKEDEQVIQVAGEEDLKPOHSNFRGRASLPKDQLKGNAAIQITDVKLQDAGVYCCHSYGGADYK
RIITLVNAPYRKINQRISVDPATSEHELICQAEGYPEAEVIWNTNSDHHQPVYSGKRSVTTSTRTEGMLLNVTSSLRVNATANDVFYCTFWRSQPGQNH
TAELHPELPATHPPQNRTGGGGGGGGGGGGGGGGGGSGSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQVRFDSDAASQRMEPRAPWIEQ
EGPEYWDGGETRKKVKAHSQTHRVDLGLTRGcYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSWRFRLRGYHQYAVDGDYVIALKEDLHSWTAADMAAQ
TTKHKWEAAHVAEQLRAYLEGTCEWLRRLYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHVAVSDHEATLRCWALSFPYPAEITLWQRDGEDQTQDT
ELVETRPAGDGTTFQKWAADVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRWEPAAAAGGDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVLEPPPKPDKDLMISRTPF
VTCVVVDSHEDPEYKENWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTRYVYSVLTVLHODWINGKEYKCKVSNKALPAIEKITSKAKGPPREPOPYTL
PPSREMTKNOYSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCGVSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
GKGGSHHHHHHHHH

- 이중 밑줄 굵은 글씨: HTLV-1 에피토프
- 밑줄: 링커(시스템인 변형 - 소문자)
- 이태리체: B2M 도메인
- 굵은 이태리체: 마우스 PD-L1 도메인
- 밑줄 이태리체: P2A 자가-절단 펩티드
- 굵은 밑줄: B2M 리더 서열
- 굵은 글씨: 인간 종족 (시스템인 변형 - 소문자)
- 굵은 이태리체 밑줄: 인간 Fc
- 이중 밑줄: His 태그

도면23



도면24a

GenBank 3S7G_A

호모 사피엔스 IgG1 Fc (서열 번호: 83)

227 aa

```

1 dkthtppcp apellggpsv flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvshed pevknwvyvd
61 gvevhnaktk preeqynsty rvsvltvlh qdwlngkeyk ckvsnkcalpa piektiskak
121 gqprepqvyt lpsrdeltk nqsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvlds
181 dgsfflyskl tvdkarwqqg nvfscsvmhe alnhhtqks lslspgk
    
```

GenBank AAN76044

호모 사피엔스 IgG2 Fc (아미노산 99-325) (서열 번호: 84)

227 aa

```

1 stkgpsvfpl apcsrsts es taaigclvkd yfpepvtvsw nsgaltsgvh tfpavlgssg
61 lyslssvvtv pssnfgtqty tcnvdhkpsn tkvdkverkk ccvecppcpa ppvagpsvfl
121 fppkpkdtlm isrtpevtcv vdvshedpe vqfnwyvdgv evhnaktkpr eeqfnstfrv
181 vsvltvvhqā wlngkeykck vsnkglpapi ektisktkgq prepqvytip psraemtknq
241 vsltclvkgf ypsdiavewe sngqpennyk ttpmlsdsg sfflyskltv dkarwqqgnv
301 fscsvmheal hnhhtqksls lspgk
    
```

GenBank AAW65947

호모 사피엔스 IgG3 Fc (아미노산 19-246) (서열 번호: 85)

238 aa

```

1 hkpsntkvdk rvelktpgdl tthtppcpa pelggpsvf lfppkpkdtl misrtpevtc
61 vvvdvshedp evknwvydg vevhnaktkp reeqynstyr vsvltvlhq dwlngkeykc
121 kvsnkcalpap iektiskakg qprepqvytl ppsrdeltn qvsltclvkg fypsdiavew
181 esngqpenny kttppvldsd gsfflysklt vdkarwqqgn vscsvmhea lnhhtqksl
241 slspgk
    
```

도면24b

GenBank AAA52770

호모 사피엔스 IgD Fc (아미노산 162-383) (서열 번호: 86)
222 aa

```

1 ptkapdvfpi isgerhpkdn spvvlacilit gyhptsvtvt wymgtqsqpg rtfpeiqrld
61 syymtssqis tplqqrqge ykcvvghtas kskkeifrwg espkaqassy ptaqpqaegs
121 lakattapat trntgrggee kkkkkekeeq eeretktpec pshtqplgvy lltpavqdlw
181 lrakatftcf vvgdtkdah ltwevagkvp tggveeglle rhngsgsqg srltlprslw
241 nagtsvtctl nhpslppqrl malrepaaga pvklslnlla sdppeaasw llcevagfep
301 pnillmwled grevntsgfa parpppqrz ttfwawsvir vpappspapa tytcovshed
361 srtilnasrs levsyvtahg pmk
    
```

GenBank 0308221A

호모 사피엔스 IgM Fc (서열 번호: 87)
276 aa

```

1 vtstltikzs dvlqesmfte rvdhrgltfq qnasemcwpd qdtairvfae ppsfasiflt
61 kstkltcivt dltybsvri swtreengav kthtnisesh pnatfsavge asicedbdws
121 gerftctvth tdlpplkgt iarpkqvalh rpbvylppa rzzlniresa titclvtgfs
181 padvfvevmq rgeplspgky vtsapmpepq apgryfahsi ltvseeewnt ggtytcvvh
241 eaipnrvtter tvdkstgkpt lynvalvmsd tagtcy
    
```

도면24c

GenBank P01876

호모 사피엔스 IgA Fc (아미노산 120-353) (서열 번호: 88)
234 aa

```

1 asptspkvfp lslcstqpdg nvviacivgg ffpqeplsvt wsesgqvta rnfppsqdas
61 gdlyttssql tlpatqlag kvvtchvkhy tnpdqdvrvp cpvstppptp spstppptpsp
121 sechprlsh rpaledllg seanltctlt glrdasgvtf twtpeegksa vggpperdic
181 gcysvssvlp goaepwnhgk tftctaaype sktpltatls kagntfirpev hllpppseei
241 alnelvtltc largfspkdv lvrwlqsgge lprekyltwa srqepsqgtt tfavtsilrv
301 aaedwkkgdg fscmvqheal piaftqktid rlagkpthvn vsvmaevdg tcy
    
```

GenBank IF6A_B

호모 사피엔스 IgE Fc (아미노산 6-222) (서열 번호: 89)
212 aa

```

1 adpcdsanprg vsaylserpfp fdlifikspt itclvvdlap skgtvnltsa rasgkpvnhg
61 trkeekqng tltvtstlpv gtrdwieget yqcrvthphl pralmrsttk tsqpraapev
121 yafatpewpg ardkrtlacl iqnfmpedis vqwhnevql pdarhsttqp rktkgsqffv
181 fsrlevtrae weqkdeficr avheaaspsq tvgravsvnp gk
    
```

GenBank P01861

호모 사피엔스 IgG4 Fc (아미노산 100-327) (서열 번호: 90)
228 aa

```

1 astkgpsvfp lapcsrtsse staalgclvk dyfpepytvs wnsгалtsgv htfpavlqss
61 glyslssvvt vpssslgkt ytcnvdhkps ntkvdkrves kygpppocsp apelfggpsv
121 flfppkpkdt lmisrtpevt cvvvdvsqad pevqfnwyvd gvevhaktk preeqfnsty
181 rvsvvitvih qdwlngkeyk ckvsnkgips siektiskak gqprepgvyt lppsgeentk
241 nqvsltclvk gfypsdiave wesngqpenn ykttppvids dgsfflysrll tvdksrwgqg
301 nvfscsvmbe alhhhytqks lsllslgk
    
```

도면25a

호모 사피엔스

GenBank NP_001229687

HLA-A

아미노산 25-365 (서열 번호:91)

```

1 mavmaprtll lllsgalalt qtwagshsmr yfftsvsrpg rgeprfiavg yvddtqfvrf
61 dsdaasqkme prapwieqeg peywdqetrn mkahsqtdra nigtirgyyn qsedgshtiq
121 imygdvqpd grflrgyrqd aydgkdyial nedlrswtaa dmaaqitkrk weavhaaeqr
181 rvylegrcvd girrylengk etlgrtdppk thmthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrddgedqtq dtelvetrpa gdtgfkqkaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwel
301 ssqptipivg iiaqlvllga vitgavvaav mwrrkssdrk ggsytqaass dsaggsdvs1
361 tackv
    
```

도면25b

호모 사피엔스

GenBank NP_005505

HLA-B

아미노산 25-362 (서열 번호:92)

```

1 mlvmaprtvl lllsaalalt etwagshsmr yfytvsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaaspree prapwieqeg peywdrntqi ykaqaqt dre slrnirgyyn qseagshtiq
121 smygdvqpd grllrghdgy aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk weaareaeqr
181 raylegcve wlrlylengk dxleradppk thvthhpisd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrddgedqtq dtelvetrpa gdrtfkkqaa vvvpsgeeqr ytchvqhegl pkpltlrwep
301 ssqstvpiwg ivaglavlav vvigavvaav mcrrkssgk ggsysqaacs dsaggsdvs1
361 ta
    
```

도면25c

호모 사피엔스

GenBank NP_001229971

HLA-C

아미노산 25-366 (서열 번호:93)

```

1 mrvmaprall lllsgglalt etwacshsmr yfdtavsrpg rgeprfisvg yvddtqfvrf
61 dsdaasprge prapwveqeg peywdretqn ykrqaqadv slrnirgyyn qsedgshtiq
121 rmygdclgpd grllrgydqs aydgkdyial nedlrswtaa dtaaqitqrk leaaraaeql
181 raylegtcve wlrlylengk etlqraeppk thvthhplsd heatlrcwal gfypaeitlt
241 wqrddgedqtq dtelvetrpa gdtgfkqkaa vvvpsgqeqr ytchmqhegl qepltlswep
301 ssqptipimg ivaglavlvv lavlgavvta mmcrkssgg kggscsqaac snsaggsdes
361 litcka
    
```

도면26a

PD-L1

무스 무스클루스

NP_068693

아미노산 19-290 (서열 번호:94)

```

1 mrifagiift acchlraft itapkdlyvv eygsnvtmec rfpvereldl lalvvyweke
61 deqviqfvag eedlqpqhsn frgraslpkd qlkqnaalg itdvklqdag vycciiisyyg
121 adykritlkv napyrkinqr isvdpatseh elicqaegyp eaeviwtnd hcpvsgkrsv
181 ttsrtegmll nvtsslrva tandvfyctf wrsqpgqnh taeliipelpa thppqnrthw
241 vllgsillfl ivvstvlifl rkqvrmldve kcgvedtssk nrndtqfeet
    
```

도면26b

PD-L1

호모 사피엔스

NP_054852

아미노산 19-290 (서열 번호:95)

```

1  mrifavfifm tywhllnaft vtvpkdlyvv eygsnmtiec kfpvekqldl aalivywame
61  dkniiqfvhg eedikvqhss yrqrarllkd qlslgnaalg itdvklqdag vyrcmisygg
121 adykritkvk napynkinqr ilvvdpytse heltcgaegy pkaeviwts dhqvlsgktt
181 ttnskreekl fnvtstlrin tttneifyct frrltpeenh taelvipalp lahppnerth
241 lvilgaillc lgvaltfifr lrkgrmmdvk kcgiaqdtnsk kgsdthleet
    
```

도면27

4-1-BBL

호모 사피엔스

GenBank NP_003802

아미노산 50-254 = 엑토도메인 (서열 번호: 96)

```

1  meyasdasid peapwppapr aracrviwa lvagllllll laaacavfla cpwavsgara
61  spgsaasprl regpelspdd paglldirgg mfaqlvaqnv lldgplswy scpglagvsi
121 tgglisykedt kelvvakagv yyvffqler rvvagegsgs vslaihlqpi rsaagaaala
181 ltvdippass earnsafgfg griihlsagg rlgvhlhtea rarha wqltq gatvlgflrv
241 tpeipaglps prse
    
```

도면28

호모 사피엔스

ICOS-L

GenBank NP_056074

아미노산 19-302 (서열 번호:97)

```

1  mrlgspgllf llfsslradt qekevramvg sdvelscacp egsrfdlndv yvwyqtseak
61  tvvtyhipqn sslenvdsry rnralmispag mrgdfslrl fnvtpqdeq fhclvlisql
121 gfqevlsvev tlhvaanfsv pvvsaphsps qdeltftcts ingyprpnvy winktdnsl
181 dqalqndtvf lnmrglydvv svlriartps vnigccienv llqqnlvgs qtgndigerd
241 kitenpystg eknaatwsil avlcllvvva vaigwvcrdr clqhsyagaw avspeteltg
301 hv
    
```

도면29

호모 사피엔스

GenBank NP_003317

OX4L (서열 번호:98)

```

1  mervqpleen vgnaarprfe rnklllvasv iqqlglllcf tyiclhfsal qvsarypriq
61  sikvqfteyk kekqfiltsq kedeimkvqn nsviincdgi ylisikgyfs qevnisihyq
121 kdeepflqik kvrsvnslmv asltykdkvy lnvttndtsl ddfhvnggel ilihqnpgef
181 cvl
    
```

도면30

호모 사피엔스

GenBank NP_079515

PD-L2

아미노산 20-273 (서열 번호:99)

```

1 mifllllmsl elqlhgiaal ftytvpkely iiehgsvtl ecnfdtgshv nlgaitaslq
61 kvendtsphr eratllaeql plgkasfhip qvqvrdeggy qciiiygvaw dykyltikvk
121 asyrkinthi lkvpetdeve ltcqatgypl aevswpnvsv pantsshrtp eglyqvtsvl
181 rlkpppgrnf scvfwnthvr eitlasidlq sqmepnthpt wllhifipfc iiafifiatv
241 ialrkqlqok lysskdttkr pvtttkrevn sai
    
```

도면31

호모 사피엔스

GenBank NP_005182

CD80 (B7-1)

아미노산 35-288 (서열 번호:100)

```

1 mghtrrrgts pskcypinff qlvlaglsf fcsgvihvtk evkevatic ghnvsveela
61 qtirywqkek kmvltmmsgd mniwpeyknr tifditnns ivilalrpsd egtyecvvlk
121 yekdafkreh laevtlsvka dfptpsisdf eiptsnirri icstsggfpe phlswleng
181 elnainttvs qdpetelyav eskldfnmtt nhsfmeliky ghlrvtqtfn wnttkqehfp
241 dnllpswait lisvngifvi ccltycfapr crerrrnerl rresvrpv
    
```

도면32

호모 사피엔스

GenBank NP_787058

CD86 (B7-2)

아미노산 31-329 (서열 번호:101)

```

1 mdpqcmtgls nilfvmafll sgaaplkiqa yfnetadlpc qfansqngsl selvfvwdq
61 enlvlnevyl gkekidsvhs kymgrtsfds dswtlrlhnl qikdkglyqc ihhkkptgm
121 irihqmsel svlanfsqpe ivpisniten vyinltcssi hgypepkms vllrtknsti
181 eydgimqksq dnyvtelydvs isisvsfpdv tsnmtifcil etdktrllss pfsieledpq
241 pppdhipwit avlptviicv mvfclilkw kkkkrprnsy kcgntmere eseqtkkrek
301 ihipersdea qrvfksskts scdksdtcf
    
```

도면33

Fas 리간드 (FasL)

호모 사피엔스

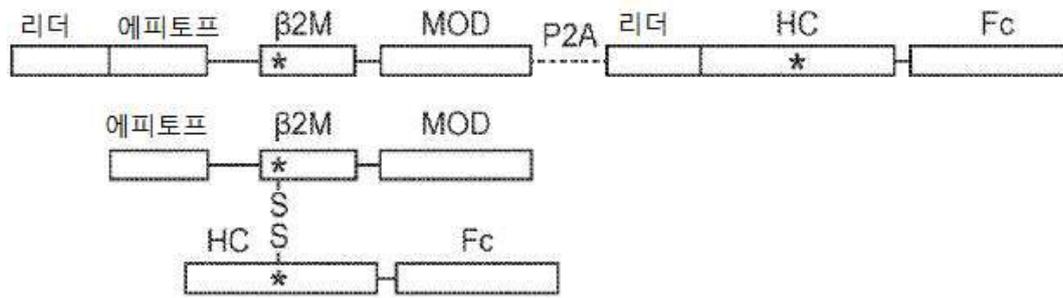
GenBank NP_000630

아미노산 1-281 (서열 번호:102)

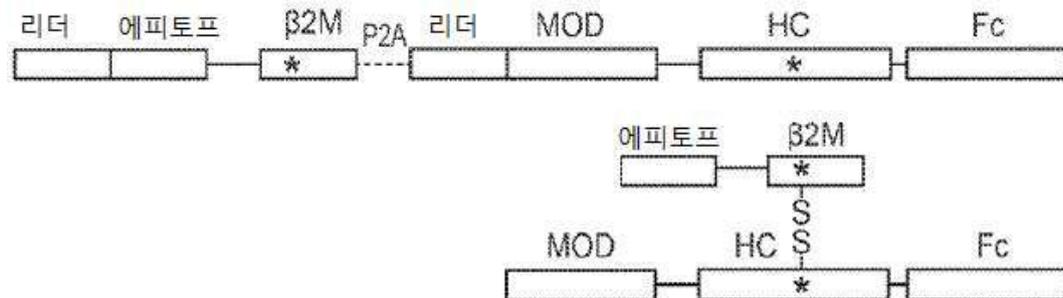
```

1 mqqpfnypp qiywdssas spwappgtvl peptsvprp qrrpppppp ppplppppp
61 pplpplplpp lkkrqnhstg lcillvmffmv lvalvglgig mqlfhlqke laelrestsq
121 mhtasslekq ighpspppek kelrkvahgksnrsrsmpl ewedtygivil lsgvkykkg
181 lvinetglyf vyskvyfrgq scnnlplshk vymrnskypq dlvmmegkmm sycttgqwa
241 rssylgavfn ltsadhlyvn vaelslvnfe esqtffglyk l
    
```

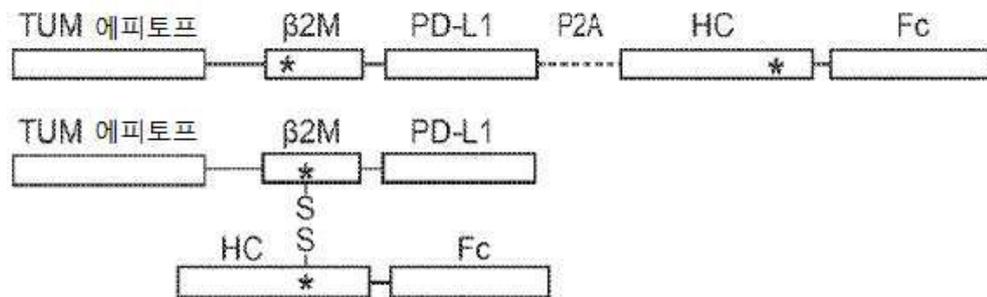
도면34a



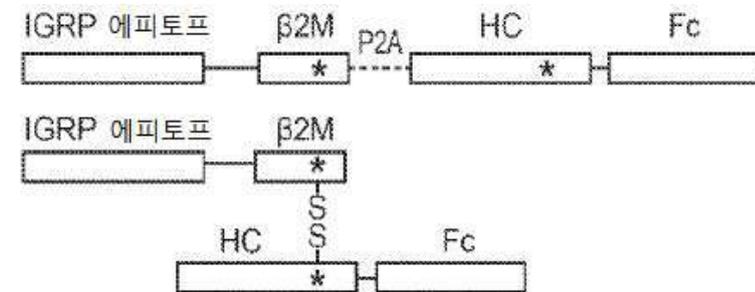
도면34b



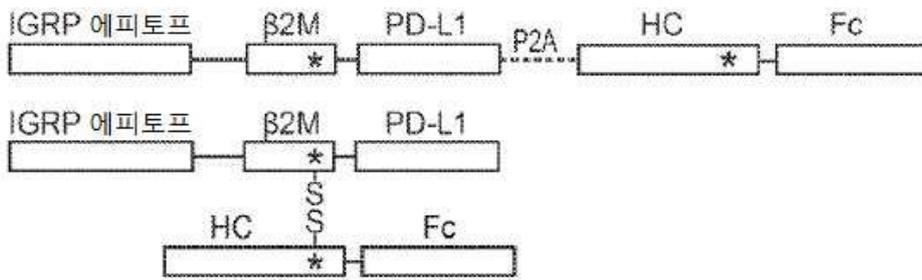
도면34c



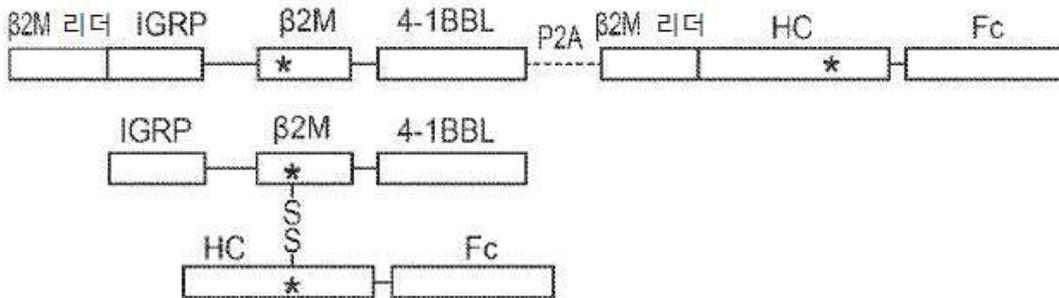
도면34d



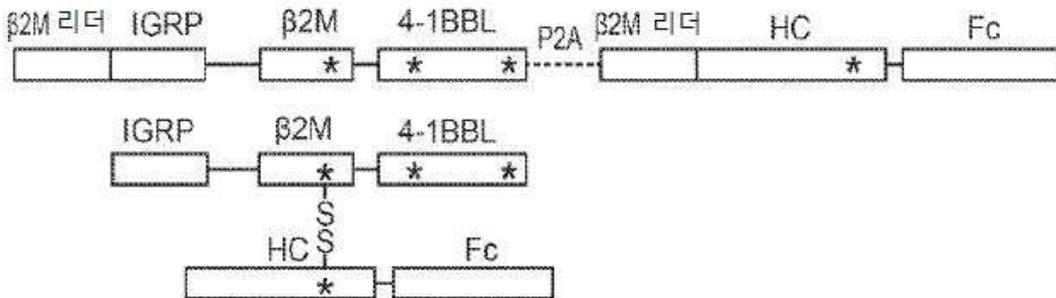
도면34e



도면34f



도면34g



도면34h



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Almo, Steven C

Seidel, Ronald D III

Chaparro, Rodolfo J
 Hillerich, Brandan S
 Garforth, Scott J

<120> Syntac Polypeptides and Uses Thereof

<130> 96700/2236

<150> 62/013715

<151> 2014-06-18

<160> 102

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 1

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

<210> 2

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 2

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

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 3

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 3

Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 4

<211> 99

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 4

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu

1 5 10 15

Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro

20 25 30

Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys

35 40 45

Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu

50 55 60

Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys

65 70 75 80

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp

85 90 95

Arg Asp Met

<210> 5

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 5

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly

1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln

Arg Trp Glu Pro

275

<210> 6

<211> 925

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 6

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly

1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln

20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn

35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu

50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Phe

130 135 140

Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser Asn

145 150 155 160

Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu Asp Leu Leu

165 170 175

Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val Ile Gln Phe

180 185 190

Val Ala Gly Glu Glu Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn Phe Arg Gly
 195 200 205

Arg Ala Ser Leu Pro Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn Ala Ala Leu
 210 215 220

Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Cys Cys Ile
 225 230 235 240

Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu Lys Val Asn
 245 250 255

Ala Pro Tyr Arg Lys Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp Pro Ala Thr
 260 265 270

Ser Glu His Glu Leu Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Glu Ala Glu
 275 280 285

Val Ile Trp Thr Asn Ser Asp His Gln Pro Val Ser Gly Lys Arg Ser
 290 295 300

Val Thr Thr Ser Arg Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val Thr Ser Ser
 305 310 315 320

Leu Arg Val Asn Ala Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys Thr Phe Trp
 325 330 335

Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile Ile Pro Glu
 340 345 350

Leu Pro Ala Thr His Pro Pro Gln Asn Arg Thr Ser Gly Ser Gly Ala
 355 360 365

Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
 370 375 380

Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser
 385 390 395 400

Leu Ser Gly Leu Glu Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr
 405 410 415

Ser Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly
 420 425 430

Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser

435 440 445
 Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu
 450 455 460
 Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His
 465 470 475 480

 Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn Gln Ser Glu Ala
 485 490 495
 Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp
 500 505 510
 Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp
 515 520 525
 Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met
 530 535 540

 Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu
 545 550 555 560
 Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg
 565 570 575
 Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys
 580 585 590
 Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg
 595 600 605

 Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr Trp Gln
 610 615 620
 Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg
 625 630 635 640
 Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro
 645 650 655
 Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu
 660 665 670

 Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ala Ala Ala Gly Gly Asp
 675 680 685

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 690 695 700
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 705 710 715 720
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 725 730 735

 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 740 745 750
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 755 760 765
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 770 775 780
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 785 790 795 800

 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 805 810 815
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 820 825 830
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 835 840 845
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 850 855 860

 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 865 870 875 880
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 885 890 895
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 900 905 910
 Gly Lys Gly Gly Ser His His His His His His His His
 915 920 925

<210> 7

<211> 945

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 7

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val Gly Cys Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln
 20 25 30

Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn
 35 40 45

Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu

50 55 60

Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe
65 70 75 80

Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro
 85 90 95

Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser
 100 105 110

Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met Gly Gly Gly Gly Ser

115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser
130 135 140

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

Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu
 165 170 175

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

180 185 190

Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys
195 200 205

Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr

Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln
 465 470 475 480
 Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr Arg Lys Val Lys Ala His
 485 490 495
 Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr Leu Arg Gly Cys Tyr Asn
 500 505 510
 Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp
 515 520 525
 Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly Tyr His Gln Tyr Ala Tyr
 530 535 540
 Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr
 545 550 555 560
 Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys His Lys Trp Glu Ala Ala
 565 570 575
 His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu
 580 585 590
 Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr
 595 600 605
 Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His Ala Val Ser Asp His Glu
 610 615 620
 Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr
 625 630 635 640
 Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu
 645 650 655
 Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala
 660 665 670
 Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln
 675 680 685
 His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ala Ala
 690 695 700
 Ala Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> REPEAT

<222> (1)..(5)

<223> Repeat n times where n is an integer of at least 1

<400> 8

Gly Ser Gly Gly Ser

1 5

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> REPEAT

<222> (1)..(4)

<223> Repeat n times where n is an integer of at least 1

<400> 9

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 10

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 10

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 11

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 11

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 12

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 12

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 13

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 14

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 15

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 16

Gly Cys Gly Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 17

Leu Leu Phe Gly Tyr Pro Val Tyr Val

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 18

Lys Tyr Gln Ala Val Thr Thr Thr Leu

1 5

<210> 19

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 19

Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu

1 5
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <400> 20
 Thr Tyr Leu Lys Thr Asn Leu Phe Leu

1 5
 <210> 21
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic peptide
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X can be L or Q
 <400> 21

Pro Xaa Gly Met Thr

1 5
 <210> 22
 <211> 274
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide
 <400> 22

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

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

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 23

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 24

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 25

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10

<210> 26

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 26

His His His His His

1 5

<210> 27

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 27

His His His His His His

1 5

<210

> 28

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 28

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 29

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 30

Arg Tyr Ile Arg Ser

1 5

<210> 31

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 31

Phe His His Thr

1

<210> 32

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 32

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg

1

5

10

15

Ala

<210> 33

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<220><221> SITE

<222> (2)..(2)

<223> X can be L or Q

<400> 33

Pro Xaa Gly Met Thr Ser

1

5

<210> 34

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 34

Glu Asn Leu Tyr Thr Gln Ser

1

5

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 35

Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 36

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 36

Leu Val Pro Arg

1

<210> 37

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 37

Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro

1 5

<210> 38

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 38

Cys Gly Leu Val Pro Ala Gly Ser Gly Pro

1 5 10

<210> 39

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 39

Ser Leu Leu Lys Ser Arg Met Val Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 40

Ser Leu Leu Ile Ala Arg Arg Met Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 41

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 41

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

1 5 10

<210> 42

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 42

Ser Ser Tyr Leu Lys Ala Ser Asp Ala Pro Asp Asn

1 5 10

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 43

Arg Pro Lys Pro Gln Gln Phe Phe Gly Leu Met Asn

1 5 10

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 44

Ser Leu Arg Pro Leu Ala Leu Trp Arg Ser Phe Asn

1 5 10

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 45

Ser Pro Gln Gly Ile Ala Gly Gln Arg Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 46

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 46

Asp Val Asp Glu Arg Asp Val Arg Gly Phe Ala Ser Phe Leu

1 5 10

<210> 47

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 47

Ser Leu Pro Leu Gly Leu Trp Ala Pro Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 48

Ser Leu Leu Ile Phe Arg Ser Trp Ala Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 49

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 49

Ser Gly Val Val Ile Ala Thr Val Ile Val Ile Thr

1 5 10

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 50

Ser Leu Gly Pro Gln Gly Ile Trp Gly Gln Phe Asn

1 5 10

<210> 51

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 51

Lys Lys Ser Pro Gly Arg Val Val Gly Gly Ser Val

1 5 10

<210> 52

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 52

Pro Gln Gly Leu Leu Gly Ala Pro Gly Ile Leu Gly

1 5 10

<210> 53

<211> 31

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 53

His Gly Pro Glu Gly Leu Arg Val Gly Phe Tyr Glu Ser Asp Val Met

1 5 10 15

Gly Arg Gly His Ala Arg Leu Val His Val Glu Glu Pro His Thr

20 25 30

<210> 54

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 54

Gly Pro Gln Gly Leu Ala Gly Gln Arg Gly Ile Val

1 5 10

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 55

Gly Gly Ser Gly Gln Arg Gly Arg Lys Ala Leu Glu

1 5 10

<210> 56

<211> 12

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 56

Ser Leu Ser Ala Leu Leu Ser Ser Asp Ile Phe Asn

1 5 10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 57

Ser Leu Pro Arg Phe Lys Ile Ile Gly Gly Phe Asn

1 5 10

<210> 58

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 58

Ser Leu Leu Gly Ile Ala Val Pro Gly Asn Phe Asn

1 5 10

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 59

Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro

1 5 10

<210> 60

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 60

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 61

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 61

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 62

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 62

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 63

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 63

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 64

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 65

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 65

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 66

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 66

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 67

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic peptide

<400> 67

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

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

25

<210> 68

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala

20

<210> 69

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 69

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 70

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly

 20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys

 35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys

 50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile

65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met

 85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His

 100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys

 115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met

 130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser

 165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu

 180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg

 195 200 205

Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp

 210 215 220

Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu

Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
 485 490 495

Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
 500 505 510

Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
 515 520 525

Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
 530 535 540

Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
 545 550 555 560

Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
 565 570 575

Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
 580 585 590

Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
 595 600 605

His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
 610 615 620

Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
 625 630 635 640

Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
 645 650 655

Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln
 660 665 670

Asn Tyr Thr Cys His Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr
 675 680 685

Leu Arg Trp Ala Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro
 690 695 700

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu

725 730 735
 Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
 805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
 865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
 930 935

<210> 71

<211> 939

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 71

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

Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala
 245 250 255
 Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val
 260 265 270
 Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln
 275 280 285
 Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp
 290 295 300
 Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln
 305 310 315 320
 Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu
 325 330 335
 His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala
 340 345 350
 Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu
 355 360 365
 Pro Ser Pro Arg Ser Glu Ser Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu
 370 375 380
 Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Ser Arg
 385 390 395 400
 Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser Gly Leu Glu
 405 410 415
 Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
 420 425 430
 Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
 435 440 445
 Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
 450 455 460
 Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
 465 470 475 480
 Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 740 745 750
 Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 755 760 765
 Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 770 775 780
 Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 785 790 795 800
 Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
 805 810 815
 Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 820 825 830
 Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 835 840 845
 Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 850 855 860
 Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
 865 870 875 880
 Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 885 890 895
 Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 900 905 910
 Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 915 920 925
 Gly Gly Ser His His His His His His His His
 930 935
 <210> 72
 <211> 225
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic polypeptide

<400> 72

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

Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp
 65 70 75 80
 Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser
 85 90 95
 Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr
 100 105 110
 Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly
 115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala
 130 135 140
 Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser
 145 150 155 160
 Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His
 165 170 175
 Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg
 180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu
 195 200 205
 Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser
 210 215 220

Glu

225

<210> 73

<211> 939

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 73

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
 1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly
 20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys
 35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys
 50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile
 65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met
 85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
 100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys
 115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
 130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser
 165 170 175

Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu
 180 185 190

Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg
 195 200 205

Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 705 710 715 720

Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu
 725 730 735

Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 740 745 750

Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala
 755 760 765

Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val
 770 775 780

Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe
 785 790 795 800

Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr
 805 810 815

Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu
 820 825 830

Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys
 835 840 845

Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn
 850 855 860

Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp
 865 870 875 880

Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys
 885 890 895

Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly
 900 905 910

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
 930 935

<210> 74

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 74

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser

20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser

35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala

50 55 60

Cys Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp

65 70 75 80

Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser

85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr

100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly

115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala

130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser

145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His

165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg

180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu

195 200 205

Phe Arg Val Thr Cys Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser

210 215 220

Glu

225

<210> 75

<211> 939

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 75

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly

20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys

35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys

50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile

65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met

85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His

100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys

115 120 125

His Ala Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser

Ala Gly Pro His Ser Leu Arg Tyr Phe Val Thr Ala Val Ser Arg Pro
 420 425 430
 Gly Leu Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr
 435 440 445
 Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Asp Asn Pro Arg Phe Glu Pro
 450 455 460
 Arg Ala Pro Trp Met Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Gln
 465 470 475 480
 Thr Gln Arg Ala Lys Ser Asp Glu Gln Trp Phe Arg Val Ser Leu Arg
 485 490 495
 Thr Ala Gln Arg Cys Tyr Asn Gln Ser Lys Gly Gly Ser His Thr Phe
 500 505 510
 Gln Arg Met Phe Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Leu Leu Arg
 515 520 525
 Gly Tyr Gln Gln Phe Ala Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn
 530 535 540
 Glu Asp Leu Lys Thr Trp Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr
 545 550 555 560
 Arg Arg Lys Trp Glu Gln Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr
 565 570 575
 Leu Glu Gly Glu Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly
 580 585 590
 Asn Glu Thr Leu Leu Arg Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr
 595 600 605
 His Pro Arg Ser Gln Val Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly
 610 615 620
 Phe Tyr Pro Ala Asp Ile Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp
 625 630 635 640
 Leu Thr Gln Asp Met Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly
 645 650 655
 Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln

Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 915 920 925

Gly Gly Ser His His His His His His His His
 930 935

<210> 76

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 76

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser

20 25 30

Pro Gly Ser Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser

35 40 45

Pro Asp Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Cys Gly Met Phe Ala

50 55 60

Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr

100 105 110

Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly

115 120 125

Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala

130 135 140

Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser

145 150 155 160

Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His

165 170 175

Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg

180 185 190

Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu

195 200 205

Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Cys Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser

210 215 220

Glu

225

<210> 77

<211> 1285

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic polypeptide

<400> 77

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Leu Glu Ala Val Tyr Leu Lys Thr Asn Val Phe Leu Gly Cys Gly

20 25 30

Ala Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ile Gln Lys

35 40 45

Thr Pro Gln Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Pro Glu Asn Gly Lys

50 55 60

Pro Asn Ile Leu Asn Cys Tyr Val Thr Gln Phe His Pro Pro His Ile

65 70 75 80

Glu Ile Gln Met Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Lys Val Glu Met

85 90 95

Ser Asp Met Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His

100 105 110

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Thr Tyr Ala Cys Arg Val Lys

115 120 125

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

 Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp Pro Gly Leu Ala Gly Val
 195 200 205
 Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu Asp Thr Lys Glu Leu Val
 210 215 220
 Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe Phe Gln Leu Glu Leu Arg
 225 230 235 240
 Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser Val Ser Leu Ala Leu His
 245 250 255

 Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala Ala Ala Leu Ala Leu Thr
 260 265 270
 Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala Arg Asn Ser Ala Phe Gly
 275 280 285
 Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala Gly Gln Arg Leu Gly Val
 290 295 300
 His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His Ala Trp Gln Leu Thr Gln
 305 310 315 320

 Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val Thr Pro Glu Ile Pro Ala
 325 330 335
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 340 345 350
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Pro Ala Gly Leu Leu Asp
 355 360 365
 Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val Ala Gln Asn Val Leu Leu

865 870 875 880
 Tyr Asp Gly Arg Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Lys Thr Trp
 885 890 895

 Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ala Leu Ile Thr Arg Arg Lys Trp Glu Gln
 900 905 910
 Ala Gly Asp Ala Glu Tyr Tyr Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Glu Cys Val
 915 920 925
 Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Leu Gly Asn Glu Thr Leu Leu Arg
 930 935 940
 Thr Asp Ser Pro Lys Ala His Val Thr Tyr His Pro Arg Ser Gln Val
 945 950 955 960

 Asp Val Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Asp Ile
 965 970 975
 Thr Leu Thr Trp Gln Leu Asn Gly Glu Asp Leu Thr Gln Asp Met Glu
 980 985 990
 Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala
 995 1000 1005
 Ala Val Val Val Pro Leu Gly Lys Glu Gln Asn Tyr Thr Cys His
 1010 1015 1020

 Val His His Lys Gly Leu Pro Glu Pro Leu Thr Leu Arg Trp Ala
 1025 1030 1035
 Ala Ala Gly Gly Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro
 1040 1045 1050
 Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
 1055 1060 1065
 Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser
 1070 1075 1080

 Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro
 1085 1090 1095
 Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
 1100 1105 1110

Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg
 1115 1120 1125

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
 1130 1135 1140

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro
 1145 1150 1155

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro
 1160 1165 1170

Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys
 1175 1180 1185

Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp
 1190 1195 1200

Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr
 1205 1210 1215

Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met
 1220 1225 1230

Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
 1235 1240 1245

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His
 1250 1255 1260

Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys Gly Gly Ser His
 1265 1270 1275

His His His His His His His
 1280 1285

<210> 78
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 78

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser
 1 5 10 15

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

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> 84
 <211> 325
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 84

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

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

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

165 170 175
 Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu

180 185 190
 Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala

195 200 205
 Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro

210 215 220
 Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln

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

245 250 255
 Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr

260 265 270
 Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu

275 280 285
 Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser

290 295 300
 Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser

305 310 315 320
 Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 85

<211> 246

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr
 1 5 10 15

Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 20 25 30

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

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

Ser Trp Thr Arg Glu Glu Asn Gly Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile
 85 90 95

Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser
 100 105 110

Ile Cys Glu Asp Asx Asp Trp Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val
 115 120 125

Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro
 130 135 140

Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asx Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala
 145 150 155 160

Arg Glx Glx Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val
 165 170 175

Thr Gly Phe Ser Pro Ala Asp Val Phe Val Glu Trp Met Gln Arg Gly
 180 185 190

Glu Pro Leu Ser Pro Gln Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu
 195 200 205

Pro Gln Ala Pro Gly Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser
 210 215 220

Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Gly Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His
 225 230 235 240

Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr
 245 250 255

Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala
 260 265 270

Gly Thr Cys Tyr
 275

<210> 88

<211> 353

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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

1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

 20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val

 35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

 50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly

65 70 75 80

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

 85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro

 100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser

 115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn

130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe

145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu

 165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys

 180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr

195 200 205

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

210 215 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu

225 230 235 240

Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser

245 250 255
 Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro

260 265 270
 Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly

275 280 285
 Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp

290 295 300
 Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu

305 310 315 320
 Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro

325 330 335
 Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys

340 345 350
 Tyr

<210> 89

<211> 222

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Ala Asp Pro Cys Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser
 1 5 10 15

Arg Pro Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr
 20 25 30

Cys Leu Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr
 35 40 45

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

Glu Lys Gln Arg Asn Gly Thr Leu Thr Val Thr Ser Thr Leu Pro Val
 65 70 75 80

Gly Thr Arg Asp Trp Ile Glu Gly Glu Thr Tyr Gln Cys Arg Val Thr

85 90 95

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

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

<210> 90
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 90

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 91

<211> 365

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Met Ala Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ser Gly Ala

1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Gln Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe

20 25 30

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

35 40 45

Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala

50 55 60

Ala Ser Gln Lys Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly

65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Gln Glu Thr Arg Asn Met Lys Ala His Ser Gln

85 90 95

Thr Asp Arg Ala Asn Leu Gly Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser

100 105 110

Glu Asp Gly Ser His Thr Ile Gln Ile Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly

115 120 125

Pro Asp Gly Arg Phe Leu Arg Gly Tyr Arg Gln Asp Ala Tyr Asp Gly

130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala

145 150 155 160

Asp Met Ala Ala Gln Ile Thr Lys Arg Lys Trp Glu Ala Val His Ala

165 170 175

Ala Glu Gln Arg Arg Val Tyr Leu Glu Gly Arg Cys Val Asp Gly Leu

180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Pro

Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Pro Ser Ser Gln Ser
 290 295 300

Thr Val Pro Ile Val Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Ala Val
 305 310 315 320

Val Val Ile Gly Ala Val Val Ala Ala Val Met Cys Arg Arg Lys Ser
 325 330 335

Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Tyr Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asp Ser
 340 345 350

Ala Gln Gly Ser Asp Val Ser Leu Thr Ala
 355 360

<210> 93

<211> 366

<212>

PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

Met Arg Val Met Ala Pro Arg Ala Leu Leu Leu Leu Ser Gly Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Cys Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30

Asp Thr Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ser
 35 40 45

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

Ala Ser Pro Arg Gly Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80

Pro Glu Tyr Trp Asp Arg Glu Thr Gln Asn Tyr Lys Arg Gln Ala Gln
 85 90 95

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

Glu Asp Gly Ser His Thr Leu Gln Arg Met Tyr Gly Cys Asp Leu Gly
 115 120 125

Pro Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Asp Gln Ser Ala Tyr Asp Gly
 130 135 140

Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
 145 150 155 160

Asp Thr Ala Ala Gln Ile Thr Gln Arg Lys Leu Glu Ala Ala Arg Ala
 165 170 175

Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
 180 185 190

Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Thr Leu Gln Arg Ala Glu Pro
 195 200 205

Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Leu Ser Asp His Glu Ala Thr
 210 215 220

Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Thr Leu Thr
 225 230 235 240

Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu
 245 250 255

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270

Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Met Gln His Glu
 275 280 285

Gly Leu Gln Glu Pro Leu Thr Leu Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Pro
 290 295 300

Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val Ala Gly Leu Ala Val Leu Val Val
 305 310 315 320

Leu Ala Val Leu Gly Ala Val Val Thr Ala Met Met Cys Arg Arg Lys
 325 330 335

Ser Ser Gly Gly Lys Gly Gly Ser Cys Ser Gln Ala Ala Cys Ser Asn
 340 345 350

Ser Ala Gln Gly Ser Asp Glu Ser Leu Ile Thr Cys Lys Ala
 355 360 365

<210> 94
 <211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Met Arg Ile Phe Ala Gly Ile Ile Phe Thr Ala Cys Cys His Leu Leu

1 5 10 15
Arg Ala Phe Thr Ile Thr Ala Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr

 20 25 30
Gly Ser Asn Val Thr Met Glu Cys Arg Phe Pro Val Glu Arg Glu Leu

 35 40 45
Asp Leu Leu Ala Leu Val Val Tyr Trp Glu Lys Glu Asp Glu Gln Val

 50 55 60
Ile Gln Phe Val Ala Gly Glu Glu Asp Leu Lys Pro Gln His Ser Asn

65 70 75 80
Phe Arg Gly Arg Ala Ser Leu Pro Lys Asp Gln Leu Leu Lys Gly Asn

 85 90 95
Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr

 100 105 110
Cys Cys Ile Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Leu

 115 120 125
Lys Val Asn Ala Pro Tyr Arg Lys Ile Asn Gln Arg Ile Ser Val Asp

 130 135 140
Pro Ala Thr Ser Glu His Glu Leu Ile Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro

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

 165 170 175
Lys Arg Ser Val Thr Thr Ser Arg Thr Glu Gly Met Leu Leu Asn Val

 180 185 190
Thr Ser Ser Leu Arg Val Asn Ala Thr Ala Asn Asp Val Phe Tyr Cys

 195 200 205
Thr Phe Trp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asn His Thr Ala Glu Leu Ile

210 215 220

Ile Pro Glu Leu Pro Ala Thr His Pro Pro Gln Asn Arg Thr His Trp
 225 230 235 240

Val Leu Leu Gly Ser Ile Leu Leu Phe Leu Ile Val Val Ser Thr Val
 245 250 255

Leu Leu Phe Leu Arg Lys Gln Val Arg Met Leu Asp Val Glu Lys Cys

 260 265 270

Gly Val Glu Asp Thr Ser Ser Lys Asn Arg Asn Asp Thr Gln Phe Glu
 275 280 285

Glu Thr

290

<210> 95

<211> 290

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu
 1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr
 20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu
 35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile
 50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser
 65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn
 85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr
 100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val
 115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val

130 135 140
 Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr
 145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser
 165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn
 180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr
 195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu
 210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His
 225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr
 245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys
 260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu
 275 280 285

Glu Thr
 290

<210> 96

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
 1 5 10 15

Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
 20 25 30

Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
 35 40 45

Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser

50 55 60

Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp

100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu

115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe

130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser

145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala

165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala

180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala

195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His

210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val

225 230 235 240

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

245 250

<210> 97

<211> 302

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

Met Arg Leu Gly Ser Pro Gly Leu Leu Phe Leu Leu Phe Ser Ser Leu
 1 5 10 15
 Arg Ala Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp
 20 25 30
 Val Glu Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn
 35 40 45

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

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

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

 Lys Ile Thr Glu Asn Pro Val Ser Thr Gly Glu Lys Asn Ala Ala Thr

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

<210> 98

<211> 183

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

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

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

115 120 125
 Leu Lys Lys Val Arg Ser Val Asn Ser Leu Met Val Ala Ser Leu Thr
 130 135 140
 Tyr Lys Asp Lys Val Tyr Leu Asn Val Thr Thr Asp Asn Thr Ser Leu
 145 150 155 160

Asp Asp Phe His Val Asn Gly Gly Glu Leu Ile Leu Ile His Gln Asn
 165 170 175
 Pro Gly Glu Phe Cys Val Leu
 180

 <210> 99
 <211> 273
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 99
 Met Ile Phe Leu Leu Leu Met Leu Ser Leu Glu Leu Gln Leu His Gln
 1 5 10 15
 Ile Ala Ala Leu Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Glu Leu Tyr Ile Ile
 20 25 30
 Glu His Gly Ser Asn Val Thr Leu Glu Cys Asn Phe Asp Thr Gly Ser
 35 40 45
 His Val Asn Leu Gly Ala Ile Thr Ala Ser Leu Gln Lys Val Glu Asn

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

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

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

180 185 190

Val Phe Trp Asn Thr His Val Arg Glu Leu Thr Leu Ala Ser Ile Asp

195 200 205

Leu Gln Ser Gln Met Glu Pro Arg Thr His Pro Thr Trp Leu Leu His

210 215 220

Ile Phe Ile Pro Phe Cys Ile Ile Ala Phe Ile Phe Ile Ala Thr Val

225 230 235 240

Ile Ala Leu Arg Lys Gln Leu Cys Gln Lys Leu Tyr Ser Ser Lys Asp

245 250 255

Thr Thr Lys Arg Pro Val Thr Thr Thr Lys Arg Glu Val Asn Ser Ala

260 265 270

Ile

<210> 100

<211> 288

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr

1 5 10 15

Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys

20 25 30

Ser Gly Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu

35 40 45

Ser Cys Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile

50 55 60

Tyr Trp Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp

65 70 75 80

Met Asn Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr

85 90 95

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

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

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

- <210> 101
- <211> 329
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 101

Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met
 1 5 10 15
 Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe

Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu
 275 280 285
 Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro
 290 295 300
 Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser
 305 310 315 320
 Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe
 325
 <210> 102
 <211> 281
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 102
 Met Gln Gln Pro Phe Asn Tyr Pro Tyr Pro Gln Ile Tyr Trp Val Asp
 1 5 10 15
 Ser Ser Ala Ser Ser Pro Trp Ala Pro Pro Gly Thr Val Leu Pro Cys
 20 25 30
 Pro Thr Ser Val Pro Arg Arg Pro Gly Gln Arg Arg Pro Pro Pro Pro
 35 40 45
 Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Leu Pro
 50 55 60
 Pro Leu Pro Leu Pro Pro Leu Lys Lys Arg Gly Asn His Ser Thr Gly
 65 70 75 80
 Leu Cys Leu Leu Val Met Phe Phe Met Val Leu Val Ala Leu Val Gly
 85 90 95
 Leu Gly Leu Gly Met Phe Gln Leu Phe His Leu Gln Lys Glu Leu Ala
 100 105 110
 Glu Leu Arg Glu Ser Thr Ser Gln Met His Thr Ala Ser Ser Leu Glu
 115 120 125
 Lys Gln Ile Gly His Pro Ser Pro Pro Pro Glu Lys Lys Glu Leu Arg
 130 135 140
 Lys Val Ala His Leu Thr Gly Lys Ser Asn Ser Arg Ser Met Pro Leu

145 150 155 160
 Glu Trp Glu Asp Thr Tyr Gly Ile Val Leu Leu Ser Gly Val Lys Tyr

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

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