



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0136465  
(43) 공개일자 2020년12월07일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 14/705 (2006.01) A61K 38/00 (2006.01)  
A61P 17/06 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)  
C12N 15/62 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 14/70528 (2013.01)  
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7030735
- (22) 출원일자(국제) 2019년03월25일  
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2020년10월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2019/023883
- (87) 국제공개번호 WO 2019/190984  
국제공개일자 2019년10월03일
- (30) 우선권주장  
62/650,022 2018년03월29일 미국(US)  
62/783,986 2018년12월21일 미국(US)

- (71) 출원인  
화이자 인코포레이티드  
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235  
더 리전트 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아  
미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린 스트리트 1111 12층
- (72) 발명자  
크렐린, 나타샤, 케이  
미국 10017 뉴욕주 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235  
일리, 로렌, 케이트  
미국 10017 뉴욕주 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김영

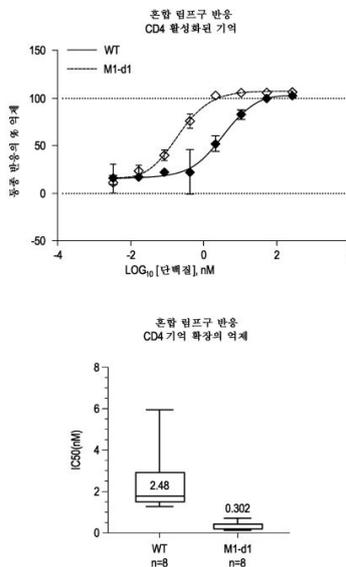
전체 청구항 수 : 총 36 항

(54) 발명의 명칭 LFA3 변이체 및 그의 조성물 및 용도

(57) 요약

본 발명은 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자를 제공한다. 본 발명은 LFA3 폴리펩티드 분자의 용도 및 연관된 사용 방법을 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

*A61P 17/06* (2018.01)

*A61P 3/10* (2018.01)

*C12N 15/62* (2013.01)

*C07K 2317/732* (2013.01)

*C07K 2319/30* (2013.01)

(72) 발명자

**라이스, 제이슨, 로블즈**

미국 10017 뉴욕주 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235

**호, 치아, 치**

미국 10017 뉴욕주 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235

**블루스톤, 제프리, 에이.**

미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린  
스트리트 1111

**트로타, 엘레오노라**

미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린  
스트리트 1111

**탕, 치즈**

미국 94607-5200 캘리포니아주 오클랜드 플랭크린  
스트리트 1111

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체이며,

여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인

단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

서열식별번호: 69의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,

서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는

단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체.

#### 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.

#### 청구항 4

서열식별번호: 17-41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LFA3 도메인을 포함하는, CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체이며, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

#### 청구항 5

제4항에 있어서, 아미노산 서열이 서열식별번호: 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23이고, LFA3 도메인이 Leu의 아미노산 잔기 또는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

#### 청구항 6

제4항에 있어서, LFA3 도메인이 서열식별번호: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, LFA3 도메인이 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

#### 청구항 7

제4항 또는 제6항에 있어서, LFA3 도메인이 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드.

#### 청구항 8

LFA3 도메인을 포함하는 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체이며,

여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43 및 86에서의 1개 이상의 돌연변이를 갖는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 것인

단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 9**

제8항에 있어서, LFA3 도메인이 Leu의 아미노산 잔기 또는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 10**

제8항 또는 제9항에 있어서, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43 및 86에서의 1개 이상의 돌연변이가 A36V, L38F, F43V 및 M86F인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 11**

제4항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 도메인을 추가로 포함하며,

여기서 제2 도메인은 이뮤노글로불린 단백질, 예를 들어 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 중쇄 불변 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나;

여기서 제2 도메인은 중쇄 (예를 들어, 인간 IgG1 중쇄)의 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나; 또는

여기서 제2 도메인은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 12**

제4항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 제2 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제2 도메인은 서열식별번호: 16에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 13**

제12항에 있어서, 제2 도메인이 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 14**

제11항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 링커를 추가로 포함하며, 여기서 링커는 제2 도메인의 N-말단을 LFA3 도메인의 C-말단에 연결하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 15**

제11항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서,

iii. 제2 도메인이, 예를 들어 분자간 디설피드 결합을 통해 또 다른 제2 도메인과 이량체를 형성할 수 있고/거나,

iv. 제2 도메인이 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 매개할 수 있는 것인

단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 16**

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서

LFA3 도메인이 서열식별번호: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 폴리펩티드는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않고;

Fc 도메인이 서열식별번호: 16에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것인

단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 17**

제11항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서,

폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체가 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하고,

여기서 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43, 86, 92, 228 및 230에서의 1개 이상의 돌연변이를 포함하는 것인

단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

**청구항 18**

제17항에 있어서, 서열식별번호: 4에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43, 86, 92, 228 및 230에서의 1개 이상의 돌연변이가 A36V, L38F, F43V, M86F, V92\_D93insL, D228E 및 L230M인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 단편.

**청구항 19**

CD2에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 하기 특성 중 1개 이상을 갖는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:

- i. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 약 70, 75, 80, 85, 90 또는 95% 더 높은 단량체의 백분율에 의해 입증된, 증진된 단량체 발현,
- ii. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 약 75, 80, 85, 90 또는 95% 초과인 단량체의 백분율, 약 10, 8, 6, 4 또는 2% 미만인 저분자량 종 (LMWS)의 백분율 및/또는 5, 2 또는 1% 미만인 고분자량 종 (HMWS)의 백분율에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현 및 감소된 다량체 발현,
- iii. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 37.4℃에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 90, 92 또는 95% 초과인 단량체의 백분율에 의해 입증되고/거나 40℃에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 75, 80 또는 85% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- iv. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 40℃에서 HMWS의 약 5, 10, 15 또는 20% 이하의 증가 및/또는 50℃에서 HMWS의 약 5, 10, 15, 20 또는 25% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- v. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 5시간 동안 낮은 pH에서 HMWS의 약 6, 7, 8 또는 9% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 낮은 pH 하의 감소된 응집 경향,
- vi. 모세관 겔 전기영동 (CGE) 또는 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)를 사용하여 측정시, 40℃에서 2 또는 4주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1, 2, 3, 4 또는 5% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- vii. 예를 들어 SE-HPLC를 사용하여 측정시, 25℃에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- viii. 예를 들어 SE-HPLC를 사용하여 측정시, 5℃에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- ix. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 5회 사이클의 동결-해동 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 동결-해동 안정성,
- x. 20mL Expi293 배양물당 약 5.5, 6, 6.5 또는 7 mg 초과인 수율에 의해 입증된, 서열식별번호: 120의 아미노

산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 수율,

xi. 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 측정시, 약 38, 40, 42, 45 또는 50°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열 식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

xii. DSF에 의해 측정시, 약 40, 45, 50, 55 또는 60°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

xiii. 시차 주사 열량측정법 (DSC)에 의해 측정시, 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

xiv. DSC에 의해 측정시, pH 7.5에서 약 55, 58, 60, 62, 64 또는 66°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인  $T_{m2}$ ; pH 5.8에서 약 55, 58, 60, 62 또는 64°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인  $T_{m2}$ ; 또는 pH 4.5에서 약 55, 58 또는 60°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78 또는 80°C 초과인  $T_{m2}$ ,

xv. DSC에 의해 측정시, pH 7.5 또는 pH 4.5에서 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$  또는 pH 5.8에서 약 50 또는 62°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

xvi. DSC 및 패브리케이터 IdeS에 의해 측정시, 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

xvii. SPR에 의해 측정시, 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.2, 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 또는 0.08  $\mu M$  미만인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,

xviii. SPR에 의해 측정시, 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu M$  미만이고/거나 시노물구스 CD2에 대한  $K_D$ 가 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu M$  미만인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,

xix. SPR에 의해 측정시, CD4  $T_{mem}$  세포에의 결합에 대한  $K_d$ 가 약 100, 200, 300 또는 400pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,

xx. SPR에 의해 측정시, 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200 또는 1500 pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 150, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 또는 800 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; 및/또는 CD8 천연 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $IC_{50}$ 이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1600 또는 1700 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,

xxi. SPR에 의해 측정시, CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300 또는 400 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200 또는 300 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 50, 100 또는 150 pM 이하; CD8 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 50, 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열 식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,

xxii. SPR에 의해 측정시, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 시노물구스 CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 감소된  $EC_{50}$ 에 의해 입증된, CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,

xxiii. 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정을 사용하여 측정시, 사멸 CD4 T<sub>mem</sub> 세포에 대한 EC50이 약 400, 600, 800, 1000, 1200 또는 1400pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,

xxiv. 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정을 사용하여 측정시, 사멸 CD8 T<sub>mem</sub> 세포에 대한 EC50이 약 1, 5, 10, 20, 30, 40 또는 50 nM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,

xxv. 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에 대한 IC50이 약 400, 800, 1200, 1600, 2000 또는 2400 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 T 세포 증식 및/또는 시토카인 생산인 동종 T 세포 반응의 증진된 억제,

xxvi. NK 세포의 부재 하의 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에 대한 IC50이 약 330, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500 또는 2000 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 T 세포 증식 및/또는 시토카인 생산인 동종 T 세포 반응의 증진된 억제,

xxvii. 과상풍 특소이드 회상 (TTR) 검정에서 측정시, CD4 T<sub>mem</sub> IFN $\gamma$  생산에 대한 IC50이 약 1, 2, 5, 10, 15, 20 또는 25nM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 과상풍 특소이드 회상 반응의 증진된 억제,

xxviii. PK/PD 연구에 의해 측정시, 중심으로부터의 클리어런스가 약 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 또는 0.22 mL/hr/kg 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 더 느린 생체내 클리어런스, 및/또는

xxix. 모세관 켈 전기영동을 사용하여 측정시, 적어도 약 98% 또는 99%인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 순도.

**청구항 20**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 코딩하는 단리된 핵산.

**청구항 21**

제20항에 있어서, 서열식별번호: 43, 53 및/또는 123에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.

**청구항 22**

제20항 또는 제21항에 있어서, 서열식별번호: 43, 53 및/또는 123의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.

**청구항 23**

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항의 핵산을 포함하는 벡터.

**청구항 24**

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항의 핵산 또는 제23항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 25**

제24항에 있어서, Expi293 세포, ExpiCHO 세포, CHO 세포, COS 세포, HEL-293 세포, NSO 세포, PER.C6 세포 또는 SP2.0 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 포유동물 세포인 숙주 세포.

**청구항 26**

제24항 또는 제25항에 있어서, Expi293 세포 또는 ExpiCHO 세포인 숙주 세포.

**청구항 27**

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 분자 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조

성물.

**청구항 28**

제27항에 있어서, 7.5 mg의 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 폴리펩티드 분자 및 HEPES 완충 염수를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 29**

제24항 내지 제26항 중 어느 한 항의 숙주 세포가 CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 발현하는 조건 하에 이러한 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 제조하는 방법.

**청구항 30**

제29항에 있어서, 폴리펩티드 분자를 단리하는 것을 추가로 포함하는 방법.

**청구항 31**

제1항 내지 제19항, 제27항 및 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 면역억제를 필요로 하는 대상체를 치료하는데 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드 또는 제약 조성물.

**청구항 32**

면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하기 위한 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 제27항 또는 제28항의 제약 조성물의 용도.

**청구항 33**

CD2에 의해 매개되는 면역 질환, 장애 또는 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 유효량의 제27항 또는 제28항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 질환, 장애 또는 상태는 제1형 당뇨병, 건선, 판상 건선, 수장족저 농포증, 손발바닥의 농포성 건선, 수장족저의 농포증, 손발바닥의 농포증, 아토피성 피부염, 편평 태선, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 백반증, 모공성 홍색 비강진, 이식 (예를 들어, 기관 이식, 예를 들어 신장 이식), 건선성 관절염, 동종 조혈 줄기 세포 이식이 요구되는 질환, 장애 또는 상태, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 질환, 글라즈만 혈소판무력증, 비스코트-알드리치 증후군, 만성-육아종성 질환, 중증 선천성 호중구감소증, 백혈구 부착 결핍, 슈바크만-다이아몬드 증후군, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 판코니 빈혈, 선천성 이상각화증, 체디아-히가시 증후군, 재생불량성 빈혈, 원형 탈모증, 및 T 세포 림프종 (예를 들어, 피부 T-세포 림프종 또는 말초 T-세포 비-호지킨 림프종)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 상기 인간 대상체에서 CD2에 의해 매개되는 면역 질환, 장애 또는 상태를 치료 또는 예방하는 방법.

**청구항 34**

제33항에 있어서, 상기 질환이 당뇨병, 예를 들어 제1형 당뇨병 (T1D), 예를 들어 새로운 발병 T1D, 예를 들어 잔류  $\beta$  세포 기능을 갖는 새로운 발병 T1D (예를 들어, 대상체가 100일 미만 동안 진단됨), 예를 들어 2기 또는 3기 T1D인 방법.

**청구항 35**

면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하기 위한 의학의 제조에서의 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드의 용도.

**청구항 36**

샘플, 조직 또는 세포를 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체와 접촉시키고, 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 검출하는 것을 포함하는, 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 사용하여 샘플, 조직 또는 세포에서 CD2를 검출하는 방법.

**발명의 설명**

**기술분야**

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2018년 3월 29일에 출원된 미국 일련 번호 62/650,022 및 2018년 12월 21일에 출원된 미국 일련 번호 62/783,986을 우선권 주장하며, 이들 각각의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0003] 서열 목록에 대한 참조
- [0004] 본 출원은 전자 출원되며, .txt 포맷의 전자 제출된 서열 목록을 포함한다. .txt 파일은 2019년 3월 21일에 생성되고 127,715 바이트의 크기를 갖는 파일명 "PC72432A\_Seq\_Listing\_ST25.txt"의 서열 목록을 함유한다. 이 .txt 파일에 담긴 서열 목록은 명세서의 일부이며, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0005] 공동 연구 성명서 당사자
- [0006] 본원에 청구된 발명은 하기 열거된 공동 연구 협정 당사자에 의해 또는 그를 대신하여 이루어졌다. 공동 연구 협정은 청구된 발명이 이루어진 날짜 또는 그 이전에 발효되었고, 청구된 발명은 공동 연구 협정의 범주 내에서 수행된 활동의 결과로서 이루어졌다. 공동 연구 협정 당사자는 샌프란시스코 캠퍼스를 대표하는 더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아(THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 및 화이자 인크.(PFIZER INC.)이다.
- [0007] 분야
- [0008] 본 발명은 림프구 기능-연관 항원 3 (LFA3) 도메인을 포함하는 폴리펩티드 분자 및 그의 조성물, 방법 및 용도에 관한 것이다.

**배경기술**

- [0009] CD58로도 공지된 림프구 기능-연관 항원 3 (LFA3)은 CD2의 리간드이고, 항원 제시 세포 (APC)를 포함한 많은 세포 유형 상에서 발현된다 (Miller et al., J. Exp. Med. 1993 178(1):211-22; Krueger et al., Expert Opin. Biol. Ther. 2002 2(4):431-41; Haider et al., J. Immunol. 2007 393:411-20; Punch et al., Transplantation 1999 67(5):741-8; Leitner et al., J. Immunol. 2015 195(2):477-87). CD2는 모든 T 세포 상에서 발현되지만, 발현은 나이브 또는 조절 T 세포와 비교하여 기억 T 세포 상에서 더 많다 (Chamian et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2005 102(6):2075-80; Rigby et al., J. Clin. Invest. 2015 125(8):3285-96). 인간에서, CD2는 또한 NK 세포 및 일부 수지상 세포 집단 상에서 발현된다. T 세포 또는 NK 세포 상의 CD2와 보조 세포 상의 LFA3의 상호작용은 나이브 림프구 및 이전에 활성화된 또는 기억 림프구 둘 다에 대한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. 이러한 공동자극 신호는 잠재적으로 세포-세포 상호작용의 결합력을 증가시키고/거나 CD2를 통해 직접 공동자극 신호를 전달하는 것을 수반한다 (Kaizuka et al. J. Cell Biol. 2009 185(3):521-34; Skanland et al., Biochem. J. 2014 460(3):399-410). 따라서, 예를 들어 가용성 LFA3 분자를 사용하여 CD2를 표적화하는 것은 자가면역 질환, 예컨대 제1형 당뇨병 (T1D) 및/또는 건선성 관절염을 치료하기 위한 치료 이익을 가질 수 있다. 따라서, 면역 반응을 매개하는데 있어서의 CD2 및 LFA3의 현저한 역할에 비추어, CD2의 활성을 조정할 뿐만 아니라 CD2-발현 면역 이펙터 세포를 고갈시키기 위한 전략의 개발에 대한 필요성이 존재한다.

**발명의 내용**

- [0010] 본 개시내용은 부분적으로 특정 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드가 CD2의 활성을 조정할 뿐만 아니라 CD2-발현 세포를 고갈시킨다는 발견을 제공한다. CD2-발현 세포의 조정은 자가면역 질환, 예컨대 당뇨병 및 또는 건선성 관절염의 치료에서 유익한 효과를 가질 수 있다. 본 출원은 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자를 개시한다. 특정 측면에서, LFA3 폴리펩티드 분자는 CD2에 결합하고, CD2-LFA3 상호작용을 조정하고, CD2-발현 기억 T 세포를 선택적으로 고갈시킨다.
- [0011] 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1 (본원에서 M1-d1, LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc M1-d1로도 지칭됨)은 CD2+ T<sub>EM</sub> 세포의 기능 및 선택적 고갈을 조정하여 조절/T<sub>EM</sub> 세포 수를 재균형화한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 병원성 T 이펙터 세포의 제거 및/또는 억제를 촉진한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변

이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 CD2와 LFA3 사이의 상호작용을 조정함으로써, CD2-매개된 T 세포 공동-자극을 방해한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 FcR-매개된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 통해 CD2+ T 세포를 고갈시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 아포토시스를 통해 CD2+ T 세포를 고갈시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 조절 T 세포 (Treg)를 보존하면서 CD2<sup>high</sup> T 기억 세포 (T<sub>mem</sub>), 예를 들어 중심 기억 (T<sub>CM</sub>) 및 이펙터 기억 (T<sub>EM</sub>) T 세포의 수를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 조절 T 나이브 세포를 보존하면서 CD2<sup>high</sup> T<sub>mem</sub> 세포, 예를 들어 중심 기억 (T<sub>CM</sub>) 및 이펙터 기억 (T<sub>EM</sub>) T 세포의 수를 감소시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은, 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/T<sub>EM</sub> 비 또는 Treg/T<sub>CM</sub> 비를 증가시킨다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 PD-1 및/또는 TIGIT를 발현하는 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포의 비율을 증가시킨다.

- [0012] 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1은 제1형 당뇨병 (T1D)에서 베타 세포 파괴를 주로 담당하는 세포인 CD4+ 및 CD8+ T<sub>EM</sub> (T 이펙터 기억) 세포 상에서 가장 우세하게 발현되는 세포 표면 단백질인 CD2에 결합한다. 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 M1d1의 투여는 T1D 환자에서 내인성 인슐린 생산의 보존 연장, 인슐린 요구량의 감소, 주요 저혈당증의 비율 감소 및 β 세포의 회복을 유도할 수 있다.
- [0013] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 본 발명의 변이체 LFA3 폴리펩티드 분자는 야생형 LFA3 서열에 비해 그의 안정성 및 제조성을 개선시키도록 조작되었다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 본 발명의 변이체 LFA3 폴리펩티드 분자는 야생형 LFA3 서열에 비해 CD2에 대한 그의 결합 친화도를 증가시키도록 조작되었다.
- [0014] 한 측면에서, 본 개시내용은 제2 도메인에 융합된 LFA3 도메인을 포함하는 LFA3 융합 폴리펩티드 분자를 제공한다. 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, LFA3 융합 폴리펩티드 분자 내의 LFA3 도메인의 C-말단 경계를 연장시키는 것은 LFA3 융합 폴리펩티드 분자의 1개 이상의 활성을 개선시킨다. 예를 들어, 야생형 LFA3의 위치 93 (예를 들어, 서열식별번호(SEQ ID NO): 2의 위치 93)에 상응하는 Leu의 아미노산 잔기 또는 야생형 LFA3의 위치 93-98 (예를 들어, 서열식별번호: 2의 위치 93-98)에 상응하는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 포함하도록 LFA3 도메인의 C-말단 경계를 연장시키는 것은 LFA3 융합 폴리펩티드 분자의 1개 이상의 활성을 개선시키며, 예를 들어 도 6b-6d에 제시된 바와 같이, 예를 들어 열 안정성을 증가시키고/거나 응집을 감소시킨다.
- [0015] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 기재된 발명의 특정 실시양태들에 대한 다수의 등가물을 인지하거나 또는 상용에 지나지 않는 실험을 사용하여 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 실시양태 (E)에 의해 포괄되는 것으로 의도된다.
- [0016] E1. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 융합 폴리펩티드 분자)이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 변이체 LFA3-Fc 융합체)을 포함하고, 하기 특성 중 1개 이상을 갖는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0017] i. 예를 들어 도 3a와 관련하여 실시예 1에 기재된 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현,
- [0018] ii. 예를 들어 도 6c와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 초과인 단량체의 백분율, 약 10, 8, 6, 4 또는 2% 미만인 저분자량 중 (LMWS)의 백분율 및/또는 약 5, 2 또는 1% 미만인 고분자량 중 (HMWS)의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현 및 감소된 다량체 발현,

- [0019] iii. 예를 들어 도 3d와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 37.4℃에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 90, 92 또는 95% 초과인 단량체의 백분율을 나타내고/거나 40℃에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 75, 80 또는 85% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- [0020] iv. 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 40℃에서 HMWS의 약 5, 10, 15 또는 20% 이하의 증가 및/또는 50℃에서 HMWS의 약 5, 10, 15, 20 또는 25% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- [0021] v. 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 5시간 동안 낮은 pH에서 HMWS의 약 6, 7, 8 또는 9% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 낮은 pH 하의 감소된 응집 경향,
- [0022] vi. 예를 들어 도 30a-30c 또는 도 31a-31d와 관련하여 실시예 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 (CGE), 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 40℃에서 2 또는 4주의 저장 후 HMMS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1, 2, 3, 4 또는 5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0023] vii. 예를 들어 도 32a-32d와 관련하여 실시예 4에 기재된 SE-HPLC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 25℃에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMMS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0024] viii. 예를 들어 도 33a-33d와 관련하여 실시예 4에 기재된 SE-HPLC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 5℃에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0025] ix. 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 5회 사이클의 동결-해동 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 동결-해동 안정성,
- [0026] x. 예를 들어 도 3b와 관련하여 실시예 1에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 20mL Expi293 배양물당 약 5.5, 6, 6.5 또는 7 mg 초과인 수율을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 수율,
- [0027] xi. 예를 들어 도 3c와 관련하여 실시예 1에 기재된 시차 주사 형광측정법 (DSF) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 38, 40, 42 또는 45℃ 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0028] xii. 예를 들어 도 5b와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 40, 45, 50, 55 또는 60℃ 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0029] xiii. 예를 들어 도 6d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 40, 45 또는 50℃ 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0030] xiv. 예를 들어 도 7d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 45, 50 또는 55℃ 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0031] xv. 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 시차 주사 열량측정법 (DSC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 50 또는 60℃ 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0032] xvi. 예를 들어 표 13과 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, pH 7.5에서 약 55, 58, 60, 62, 64 또는 66℃ 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82℃ 초과인 T<sub>m2</sub>; pH 5.8에서 약 55, 58, 60, 62 또는 64℃ 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82℃ 초과인 T<sub>m2</sub>; 또는 pH 4.5에서 55, 58 또는 60℃ 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78 또는 80℃ 초과인 T<sub>m2</sub>,

- [0033] xvii. 예를 들어 표 14와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 pH 7.5 또는 pH 4.5에서 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 을 갖거나; pH 5.8에서 약 50 또는 62°C 초과인  $T_m$ 을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,
- [0034] xviii. 예를 들어 표 15와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및 패브리케이터(FabRICATOR) IdeS 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,
- [0035] xix. 예를 들어 도 5a와 관련하여 실시예 1에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.2, 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 또는 0.08  $\mu M$  미만인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0036] xx. 예를 들어 도 7c와 관련하여 실시예 1에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu M$  미만이고/거나 시노몰구스 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu M$  미만인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0037] xxi. 예를 들어 표 6과 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 T 기억 ( $T_{mem}$ ) 세포에의 결합에 대한  $K_D$ 가 약 100, 200, 300 또는 400pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0038] xxii. 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200 또는 1500 pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 150, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 또는 800 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; 및/또는 CD8 천연 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1600 또는 1700 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0039] xxiii. 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300 또는 400 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200 또는 300 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 50, 100 또는 150 pM 이하; CD8 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 50, 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0040] xxiv. 예를 들어 도 18a 및 18b와 관련하여 실시예 3에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 시노몰구스 CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 EC50이 감소된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0041] xxv. 예를 들어 표 17 및 도 12a 및 12b와 관련하여 실시예 5에 기재된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 사멸 CD4  $T_{mem}$  세포에 대한 EC50이 약 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400pM 또는 1500pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,
- [0042] xxvi. 예를 들어 표 17 및 도 12d와 관련하여 실시예 5에 기재된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정 및/

또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 사멸 CD8 T<sub>mem</sub> 세포에 대한 EC50이 약 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 nM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,

- [0043] xxvii. 예를 들어 표 6 및 도 14a 및 14b와 관련하여 실시예 2에 기재된 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 IC50이 약 400, 800, 1200, 1600, 2000 또는 2400 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 동종 T 세포 반응, 예를 들어 T 세포 증식 및 시토카인 생산의 증진된 억제,
- [0044] xxviii. 예를 들어 도 15b 및 15c와 관련하여 실시예 2에 기재된 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 NK 세포의 부재 하의 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에 대한 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500 또는 2000 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 동종 T 세포 반응, 예를 들어 T 세포 증식 및 시토카인 생산의 증진된 억제,
- [0045] xxix. 예를 들어 표 6 및 도 16a 및 16b와 관련하여 실시예 2에 기재된 과산화물 독소이드 회상 (TTR) 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 T<sub>mem</sub> IFN  $\gamma$  생산에 대한 IC50이 약 1, 2, 5, 10, 15, 20 또는 25 nM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 과산화물 독소이드 회상 반응의 증진된 억제,
- [0046] xxx. 예를 들어 표 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 중심으로부터의 클리어런스가 약 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 또는 0.22 mL/hr/kg 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 더 느린 생체내 클리어런스,
- [0047] xxxi. 예를 들어 실시예 1 또는 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 순도가 적어도 약 98% 또는 99%인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 순도, 또는
- [0048] xxxii. 예를 들어 실시예 1 또는 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 순도가 약 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8 또는 7 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 감소된 시알산 변형.
- [0049] E2. E1에 있어서, 예를 들어 도 3a와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 70, 75, 80, 85, 90 또는 95% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0050] E3. E1 또는 E2에 있어서, 예를 들어 도 6c와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 75, 80, 85, 90 또는 95% 초과인 단량체의 백분율, 약 10, 8, 6, 4 또는 2% 미만인 저분자량 종 (LMWS)의 백분율 및/또는 약 5, 2 또는 1% 미만인 고분자량 종 (HMWS)의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현 및 감소된 다량체 발현을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0051] E4. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 3d와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 37.4°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 90, 92 또는 95% 초과인 단량체의 백분율을 나타내고/거나 40°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 75, 80 또는 85% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0052] E5. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 40°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15 또는 20% 이하의 증가 및/또는 50°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15, 20 또는 25% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0053] E6. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 5시간 동안 낮은 pH에서 HMWS의 약 6, 7, 8 또는 9% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 낮은 pH 하의 감소된 응집 경향을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0054] E7. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 5회 사이클의 동결-해동 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 동결-해동 안정성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0055] E8. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 30a-30c 또는 도 31a-31d와 관련하여 실시예 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 (CGE), 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 40°C에서 2 또는 4주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1, 2, 3, 4 또는 5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0056] E9. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 32a-32d와 관련하여 실시예 4에 기재된 SE-HPLC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 25°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0057] E10. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 33a-33d와 관련하여 실시예 4에 기재된 SE-HPLC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 5°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0058] E11. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 3b와 관련하여 실시예 1에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 20 mL Expi293 배양물당 약 5.5, 6, 6.5 또는 7 mg 초과인 수율을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 수율을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0059] E12. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 약 38, 40, 42 또는 45°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0060] E13. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 약 40, 45, 50, 55 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0061] E14. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 6d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 40, 45 또는 50°C 이하인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0062] E15. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 7d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 45, 50 또는 55°C 이하인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0063] E16. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 시차 주사 열량측정법 (DSC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 50 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0064] E17. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 13과 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, pH 7.5에서 약 55, 58, 60, 62, 64 또는 66°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인 T<sub>m2</sub>; pH 5.8에서 약 55, 58, 60, 62 또는 64°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인 T<sub>m2</sub>; 또는 pH 4.5에서 약 55, 58 또는 60°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78 또는 80°C 초과인 T<sub>m2</sub>를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0065] E18. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 14와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 pH 7.5 또는 pH 4.5에서 약 50 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖거나; pH 5.8에서 약 50 또는 62°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0066] E19. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 15와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및 패브리케이 터 IdeS 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 50 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0067] E20. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 5a와 관련하여 실시예 1에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.2, 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 또는 0.08  $\mu\text{M}$  미만인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0068] E21. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 7c와 관련하여 실시예 1에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu\text{M}$  미만이고/거나 시노몰구스 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu\text{M}$  미만인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0069] E22. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 6과 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4  $T_{\text{mem}}$  세포에의 결합에 대한  $K_D$ 가 약 100, 200, 300 또는 400pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0070] E23. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200 또는 1500 pM 이하; CD4+  $T_{\text{EM}}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 150, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; CD4+  $T_{\text{CM}}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 또는 800 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; 및/또는 CD8 천연 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1600 또는 1700 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0071] E24. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하; CD4+  $T_{\text{EM}}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; CD4+  $T_{\text{CM}}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200, 300 또는 400 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 100, 200 또는 300 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 50, 100 또는 150 pM 이하; CD8 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_D$ 가 약 50, 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0072] E25. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 18a 및 18b와 관련하여 실시예 3에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 시노몰구스 CD4+  $T_{\text{EM}}$  세포에의 결합에 대한 EC50이 감소된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0073] E26. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 17 및 도 12a 및 12b와 관련하여 실시예 5에 기재된 ADCC 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 사멸 CD4  $T_{\text{mem}}$  세포에 대한 EC50이 약 400, 600, 800, 1000, 1200 또는 1400 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0074] E27. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 17 및 도 12d와 관련하여 실시예 5에 기재된 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 사멸 CD8  $T_{\text{mem}}$  세포에 대한 EC50이 약 1, 5, 10, 20, 30, 40 또는 50 nM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0075] E28. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 6 및 도 14a 및 14b와 관련하여 실시예 2에 기재된 MLR 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 IC50이 약 400, 800, 1200, 1600, 2000 또는 2400pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 동종 T 세포 반응, 예를 들어 T 세포 증식 및 시토카인 생산의 증진된 억제력을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0076] E29. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 15b 및 15c와 관련하여 실시예 2에 기재된 MLR 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 NK 세포의 부재 하의 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500 또는 2000 pM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 동종 T 세포 반응, 예를 들어 T 세포 증식 및 시토카인 생산의 증진된 억제력을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0077] E30. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 6 및 도 16a 및 16b와 관련하여 실시예 2에 기재된 TTR 검정 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 CD4 T<sub>mem</sub> IFN $\gamma$  생산에 대한 IC50이 약 1, 2, 5, 10, 15, 20 또는 25 nM 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 과상풍 특소이드 회상 반응의 증진된 억제력을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0078] E31. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 표 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 중심으로부터의 클리어런스가 약 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 또는 0.22 mL/hr/kg 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 더 느린 생체내 클리어런스를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0079] E32. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 실시예 1 또는 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 순도가 적어도 약 98% 또는 99%인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 순도를 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0080] E33. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 실시예 1 또는 4에 기재된 모세관 겔 전기영동 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 순도가 약 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8 또는 7 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 감소된 시알산 변형을 갖는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0081] E34. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 하기 특성 중 1개 이상을 추가로 갖는 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0082] i. 예를 들어 생체내 CD2<sup>high</sup> T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포에 우선적으로 결합함,
- [0083] ii. 예를 들어 도 13a와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, NK 세포의 존재 하에 CD2-발현 세포 (예를 들어, CD4+ 또는 CD8+ T<sub>CM</sub> 세포, 또는 CD4+ 또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포)를 사멸시킴,
- [0084] iii. 예를 들어 도 20a와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 생체내 CD4+ 및/또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 말초 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포를 감소시킴,
- [0085] iv. 예를 들어 도 20b와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 생체내, 예를 들어 CD4+ T 세포에서의 Treg/T<sub>EM</sub> 비를 증가시킴, 또는
- [0086] v. 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/T<sub>CM</sub> 비를 증가시킴.
- [0087] E35. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 생체내 CD2<sup>high</sup> T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포에 우선적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0088] E36. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 13a와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, NK 세포의 존재 하에 CD2-발현 세포 (예를 들어, CD4+ 또는 CD8+ T<sub>CM</sub> 세포, 또는 CD4+ 또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포)를 사멸시키는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0089] E37. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 20a와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 생체내 CD4+ 및/또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 말초 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포를 감소시키는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0090] E38. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 도 20b와 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여

측정시, 생체내, 예를 들어 CD4+ T 세포에서 Treg/T<sub>EM</sub> 비를 증가시키는 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0091] E39. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/T<sub>CM</sub> 비를 증가시키는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0092] 대안적으로 또는 본원에 제공된 임의의 실시양태 (예를 들어, E1-E39)와 조합하여, 폴리펩티드 분자는 하기 특색 및 실시양태 중 1개 이상을 갖는다.
- [0093] E40. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 73의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 73의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0094] E41. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0095] FSQQIYGVVYGNVTX<sub>1</sub>HX<sub>2</sub>PSNVPX<sub>3</sub>KEX<sub>4</sub>LX<sub>5</sub>KKQKDKX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EX<sub>8</sub>ENSEX<sub>9</sub>RX<sub>10</sub>FSSFKNRVYX<sub>11</sub>DTVX<sub>12</sub>SX<sub>13</sub>TIYNLTSSDEDEYEX<sub>14</sub>ESPNITDTX<sub>15</sub>KX<sub>16</sub>FLYVX<sub>17</sub>, 여기서
- [0096] X<sub>1</sub>은 F, I, L, V, A 또는 Y이고,
- [0097] X<sub>2</sub>는 F, I, L, V, M, A 또는 Nle이고,
- [0098] X<sub>3</sub>은 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,
- [0099] X<sub>4</sub>는 F, I, L, V, M, A 또는 Nle이고,
- [0100] X<sub>5</sub>는 W, F, L, C 또는 Y이고,
- [0101] X<sub>6</sub>은 F, I, L, V, M, A 또는 Nle이고,
- [0102] X<sub>7</sub>은 A, V, S, L 또는 I이고,
- [0103] X<sub>8</sub>은 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,
- [0104] X<sub>9</sub>는 F, I, L, V, A 또는 Y이고,
- [0105] X<sub>10</sub>은 A, V, S, L 또는 I이고,
- [0106] X<sub>11</sub>은 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,
- [0107] X<sub>12</sub>는 S, T, A 또는 G이고,
- [0108] X<sub>13</sub>은 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,
- [0109] X<sub>14</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0110] X<sub>15</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0111] X<sub>16</sub>은 F, I, L, V, A 또는 Y이고,
- [0112] X<sub>17</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 74)을 포함하거나,
- [0113] 또는 서열식별번호: 74의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0114] E42. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:

- [0115] FSQQIYGVVYGNVTX<sub>1</sub>HX<sub>2</sub>PSNVPX<sub>3</sub>KEX<sub>4</sub>LX<sub>5</sub>KKQKDKX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EX<sub>8</sub>ENSEX<sub>9</sub>RX<sub>10</sub>FSSFKNRVYX<sub>11</sub>DTV SX<sub>12</sub>SX<sub>13</sub>TIYNLTSSDEDEVEX<sub>14</sub>ESPNITDTX<sub>15</sub>KX<sub>16</sub>FLYVX<sub>17</sub>, 여기서
- [0116] X<sub>1</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0117] X<sub>2</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0118] X<sub>3</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0119] X<sub>4</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0120] X<sub>5</sub>는 W, F, L 또는 C이고,
- [0121] X<sub>6</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0122] X<sub>7</sub>은 A, V, S 또는 L이고,
- [0123] X<sub>8</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0124] X<sub>9</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0125] X<sub>10</sub>은 A, V, S 또는 L이고,
- [0126] X<sub>11</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0127] X<sub>12</sub>는 S, T, A 또는 G이고,
- [0128] X<sub>13</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0129] X<sub>14</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0130] X<sub>15</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0131] X<sub>16</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0132] X<sub>17</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 75)을 포함하거나,
- [0133] 또는 서열식별번호: 75의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0134] E43. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해 잔기 15, 17, 23, 26, 28, 35, 36, 38, 43, 45, 55, 60, 62, 77, 86 또는 88에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0135] E44. E43에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0136] i. F15I, F15L, F15V, F15A 또는 F15Y로부터 선택된 치환,
- [0137] ii. V17F, V17I, V17L, V17M, V17A 또는 V17N1e로부터 선택된 치환,
- [0138] iii. L23F, L23I, L23V, L23N1e, L23M 또는 L23A로부터 선택된 치환,
- [0139] iv. V26F, V26I, V26L, V26M, V26A 또는 V26N1e로부터 선택된 치환,
- [0140] v. W28F, W28L, W28C 또는 W28Y로부터 선택된 치환,
- [0141] vi. V35F, V35I, V35L, V35M, V35A 또는 V35N1e로부터 선택된 치환,,
- [0142] vii. A36V, A36S, A36L 또는 A36I로부터 선택된 치환,

- [0143] viii. L38F, L38I, L38V, L38Nle, L38M 또는 L38A로부터 선택된 치환,
- [0144] ix. F43I, F43L, F43V, F43A 또는 F43Y로부터 선택된 치환,
- [0145] x. A45V, A45S, A45L 또는 A45I로부터 선택된 치환,
- [0146] xi. L55F, L55I, L55V, L55Nle, L55M 또는 L55A로부터 선택된 치환,
- [0147] xii. G60S, G60T 또는 G60A로부터 선택된 치환,
- [0148] xiii. L62F, L62I, L62V, L62Nle, L62M 또는 L62A로부터 선택된 치환,
- [0149] xiv. M77L, M77I 또는 M77F로부터 선택된 치환,
- [0150] xv. M86L, M86I 또는 M86F로부터 선택된 치환, 또는
- [0151] xvi. F88I, F88L, F88V, F88A 또는 F88Y로부터 선택된 치환.
- [0152] E45. E43에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0153] i. F15I, F15L 또는 F15V로부터 선택된 치환,
- [0154] ii. V17F, V17I 또는 V17L로부터 선택된 치환,
- [0155] iii. L23F, L23I 또는 L23V로부터 선택된 치환,
- [0156] iv. V26F, V26I 또는 V26L로부터 선택된 치환,
- [0157] v. W28F, W28L 또는 W28C로부터 선택된 치환,
- [0158] vi. V35F, V35I 또는 V35L로부터 선택된 치환,
- [0159] vii. A36V, A36S 또는 A36L로부터 선택된 치환,
- [0160] viii. L38F, L38I 또는 L38V로부터 선택된 치환,
- [0161] ix. F43I, F43L 또는 F43V로부터 선택된 치환,
- [0162] x. A45V, A45S 또는 A45L로부터 선택된 치환,
- [0163] xi. L55F, L55I 또는 L55V로부터 선택된 치환,
- [0164] xii. G60S, G60T 또는 G60A로부터 선택된 치환,
- [0165] xiii. L62F, L62I, L62V로부터 선택된 치환,
- [0166] xiv. M77L, M77I 또는 M77F로부터 선택된 치환,
- [0167] xv. M86L, M86I 또는 M86F로부터 선택된 치환, 또는
- [0168] xvi. F88I, F88L 또는 F88V로부터 선택된 치환
- [0169] E46. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 76의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 76의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0170] E47. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0171] FSQQIYGVVYGNTVFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>ESPNITDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서
- [0172] X<sub>1</sub>은 A, V, S, L 또는 I이고,
- [0173] X<sub>2</sub>는 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,

- [0174] X<sub>3</sub>은 F, I, L, V, A 또는 Y이고,
- [0175] X<sub>4</sub>는 A, V, S, L 또는 I이고,
- [0176] X<sub>5</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0177] X<sub>6</sub>은 M, L, I 또는 F이고,
- [0178] X<sub>7</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 77)을 포함하거나,  
또는 서열식별번호: 77의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0180] E48. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0181] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>ESPNITDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서
- [0182] X<sub>1</sub>은 A, V, S 또는 L이고,
- [0183] X<sub>2</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0184] X<sub>3</sub>은 F, I, L 또는 V이고,
- [0185] X<sub>4</sub>는 A, V, S 또는 L이고,
- [0186] X<sub>5</sub>는 M, L, I 또는 F이고,
- [0187] X<sub>6</sub>은 M, L, I 또는 F이고,
- [0188] X<sub>7</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 78)을 포함하거나,  
또는 서열식별번호: 78의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0190] E49. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0191] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>ESPNITDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서
- [0192] X<sub>1</sub>은 V, L 또는 A이고,
- [0193] X<sub>2</sub>는 F 또는 L이고,
- [0194] X<sub>3</sub>은 V, I, L 또는 F이고,
- [0195] X<sub>4</sub>는 A, V 또는 S이고,
- [0196] X<sub>5</sub>는 M, F, I 또는 L이고,
- [0197] X<sub>6</sub>은 F, M, I 또는 L이고,
- [0198] X<sub>7</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 79)을 포함하거나,  
또는 서열식별번호: 79의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일

성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0200] E50. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0201] FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>4</sub>ESPNI TDTX<sub>5</sub>KFFLYVX<sub>6</sub>, 여  
기서
- [0202] X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,
- [0203] X<sub>2</sub>는 V, I 또는 L이고,
- [0204] X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,
- [0205] X<sub>4</sub>는 M 또는 F이고,
- [0206] X<sub>5</sub>는 F 또는 M이고,
- [0207] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 80)을 포함하거나,
- [0208] 또는 서열식별번호: 80의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0209] E51. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0210] FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>4</sub>ESPNI TDTX<sub>5</sub>KFFLYVX<sub>6</sub>, 여  
기서
- [0211] X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,
- [0212] X<sub>2</sub>는 V, I 또는 L이고,
- [0213] X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,
- [0214] X<sub>4</sub>는 M 또는 F이고,
- [0215] X<sub>5</sub>는 F 또는 M이고,
- [0216] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 80)인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0217] E52. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0218] FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>4</sub>ESPNI TDTFKFFLYVX<sub>5</sub>, 여기  
서
- [0219] X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,
- [0220] X<sub>2</sub>는 V, I 또는 L이고,
- [0221] X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,
- [0222] X<sub>4</sub>는 M 또는 F이고,
- [0223] X<sub>5</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 81)을 포함하거나,
- [0224] 또는 서열식별번호: 81의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일

성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0225] E53. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0226] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>4</sub>ESPNI TDTFKFFLYVX<sub>5</sub>, 여기서
- [0227] X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,
- [0228] X<sub>2</sub>는 V, I 또는 L이고,
- [0229] X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,
- [0230] X<sub>4</sub>는 M 또는 F이고,
- [0231] X<sub>5</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 81)인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0232] E54. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0233] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEX<sub>1</sub>RX<sub>2</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>3</sub>ESPNI TDTFKFFLYVX<sub>4</sub>, 여기서
- [0234] X<sub>1</sub>은 V 또는 I이고,
- [0235] X<sub>2</sub>는 A 또는 V이고,
- [0236] X<sub>3</sub>은 M 또는 F이고,
- [0237] X<sub>4</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 82)을 포함하거나,
- [0238] 또는 서열식별번호: 82의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0239] E55. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0240] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEX<sub>1</sub>RX<sub>2</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>3</sub>ESPNI TDTFKFFLYVX<sub>4</sub>, 여기서
- [0241] X<sub>1</sub>은 V 또는 I이고,
- [0242] X<sub>2</sub>는 A 또는 V이고,
- [0243] X<sub>3</sub>은 M 또는 F이고,
- [0244] X<sub>4</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 82)인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0245] E56. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 17-23으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0246] E57. E56에 있어서, Leu의 아미노산 잔기 또는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0247] E58. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하





인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0277] E88. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 30-41로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0278] E89. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43, 45, 77 또는 86에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0279] E90. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0280] i. A36V, A36S, A36L 또는 A36I로부터 선택된 치환,
- [0281] ii. L38F, L38I, L38V, L38N1e, L38M 또는 L38A로부터 선택된 치환,
- [0282] iii. F43I, F43L, F43V, F43A 또는 F43Y로부터 선택된 치환,
- [0283] iv. A45V, A45S, A45L 또는 A45I로부터 선택된 치환,
- [0284] v. M77L, M77I 또는 M77F로부터 선택된 치환, 또는
- [0285] vi. M86L, M86I 또는 M86F로부터 선택된 치환.
- [0286] E91. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0287] i. A36V, A36S 또는 A36L로부터 선택된 치환,
- [0288] ii. L38F, L38I 또는 L38V로부터 선택된 치환,
- [0289] iii. F43I, F43L 또는 F43V로부터 선택된 치환,
- [0290] iv. A45V, A45S 또는 A45L로부터 선택된 치환,
- [0291] v. M77L, M77I 또는 M77F로부터 선택된 치환, 또는
- [0292] vi. M86L, M86I 또는 M86F로부터 선택된 치환.
- [0293] E92. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0294] i. A36V 또는 A36L로부터 선택된 치환,
- [0295] ii. L38F의 치환,
- [0296] iii. F43V, F43I 또는 F43L로부터 선택된 치환,
- [0297] iv. A45V 또는 A45S로부터 선택된 치환,
- [0298] v. M77L, M77I 또는 M77F로부터 선택된 치환, 또는
- [0299] vi. M86L, M86I 또는 M86F로부터 선택된 치환.
- [0300] E93. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0301] i. A36V 또는 A36L로부터 선택된 치환,
- [0302] ii. L38F의 치환,
- [0303] iii. F43V, F43I 또는 F43L로부터 선택된 치환,
- [0304] iv. A45V의 치환,
- [0305] v. M77F의 치환, 또는
- [0306] vi. M86F의 치환.
- [0307] E94. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:

- [0308] i. A36V의 치환,
- [0309] ii. L38F의 치환,
- [0310] iii. F43V 또는 F43I로부터 선택된 치환,
- [0311] iv. A45V의 치환,
- [0312] v. M77F의 치환, 또는
- [0313] vi. M86F의 치환.
- [0314] E95. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0315] i. A36V의 치환,
- [0316] ii. L38F의 치환,
- [0317] iii. F43V의 치환, 또는
- [0318] iv. M86F의 치환.
- [0319] E96. E89에 있어서, 돌연변이가 하기 치환: A36V, L38F, F43V 및 M86F를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0320] E97. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0321] i. A36V의 치환,
- [0322] ii. L38F의 치환,
- [0323] iii. F43V의 치환,
- [0324] iv. A45V의 치환,
- [0325] v. M77F의 치환, 또는
- [0326] vi. M86F의 치환.
- [0327] E98. E89에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0328] i. A36V의 치환,
- [0329] ii. L38F의 치환,
- [0330] iii. F43I의 치환,
- [0331] iv. A45V의 치환,
- [0332] v. M77F의 치환, 또는
- [0333] vi. M86F의 치환.
- [0334] E99. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 서열식별번호: 2의 세포외 도메인으로부터의 아미노산 잔기, 예를 들어 서열식별번호: 2의 아미노산 잔기 93-187 중 1 내지 10개, 예를 들어 1 내지 6개를 추가로 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0335] E100. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, LESLPSPTLTCALNINGSIEV (서열식별번호: 119) 중 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산 잔기를 추가로 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0336] E101. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, LESLPS (서열식별번호: 118) 중 1, 2, 3, 4, 5개 또는 모든 아미노산 잔기를 추가로 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0337] E102. 상기 실시양태 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인을 추가로 포함하며, 예를 들어 융합 단백질 분자인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0338] E103. E102에 있어서, LFA3 도메인이, 예를 들어 링커를 통해 또는 링커 없이 제2 도메인에 연결되고, 예를 들어 LFA3 도메인의 C-말단이 제2 도메인의 N-말단에 연결되거나 또는 LFA3 도메인의 N-말단이 제2 도메인의 C-말

단에 연결되고, 임의로 여기서 LFA3 도메인의 C-말단은 링커 없이 제2 도메인의 N-말단에 연결되는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0339] E104. E102 또는 E103에 있어서, 제2 도메인이, 예를 들어 분자간 디설피드 결합을 통해 또 다른 제2 도메인과 이량체를 형성할 수 있는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0340] E105. E102-E104 중 어느 하나에 있어서,
- [0341] i. 제2 도메인이 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 매개할 수 있거나, 또는
- [0342] ii. 제2 도메인이 CD16-발현 세포, 예를 들어 CD16-발현 NK 세포 또는 CD16-발현 대식세포에 결합하고 이를 활성화시킬 수 있는 것인
- [0343] 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0344] E106. E102-E105 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인이 이뮤노글로불린 단백질, 예를 들어 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 중쇄 불변 영역 또는 그의 기능적 변이체인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0345] E107. E102-E106 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인이 중쇄 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중쇄, 예를 들어 인간 IgG1 중쇄)의 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하고, 예를 들어 제2 도메인이 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0346] E108. E102-E107 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인이 서열식별번호: 16의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 예를 들어 제2 도메인이 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0347] E109. 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 또는 그의 단편이며,
- [0348] 여기서 제1 도메인은 서열식별번호: 26에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 폴리펩티드는 서열식별번호: 3의 아미노산을 포함하지 않고;
- [0349] 여기서 제2 도메인은 서열식별번호: 16에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 단편.
- [0350] E110. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0351] E111. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0352] E112. 상기 실시양태 중 어느 하나의 2개 이상의 폴리펩티드 분자를 포함하는 단리된 다량체 (예를 들어, 이량체) 단백질 분자.
- [0353] E113. 서열식별번호: 26의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하는 2개 이상의 폴리펩티드 분자를 포함하며, 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 다량체 (예를 들어, 이량체) 단백질 분자.
- [0354] E114. 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 2개 이상의 폴리펩티드 분자를 포함하는 단리된 다량체 (예를 들어, 이량체) 단백질 분자.
- [0355] E115. 서열식별번호: 69의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하는 2개 이상의 폴리펩티드 분자를 포함하며, 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 다량체 (예를 들어, 이량체) 단백질 분자.
- [0356] E116. 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 2개 이상의 폴리펩티드 분자를 포함하는 단리된 다량체

(예를 들어, 이량체) 단백질 분자.

- [0357] E117. E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자 또는 E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자를 코딩하는 핵산 분자.
- [0358] E118. 서열식별번호: 44-50, 53-56, 122 또는 123으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열 또는 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하지 않는 핵산 분자.
- [0359] E119. 서열식별번호: 44-50, 53-56, 122 또는 123으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자.
- [0360] E120. 서열식별번호: 53의 뉴클레오티드 서열 또는 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하지 않고, 임의로 서열식별번호: 53의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자.
- [0361] E121. 서열식별번호: 123의 뉴클레오티드 서열 또는 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하지 않고, 임의로 서열식별번호: 123의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산 분자.
- [0362] E122. E117-E121 중 어느 하나의 핵산 분자를 포함하는 벡터.
- [0363] E123. E117-E121 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 E122의 벡터를 포함하는 숙주 세포.
- [0364] E124. E123에 있어서, 포유동물 세포인 숙주 세포.
- [0365] E125. E124에 있어서, CHO 세포, COS 세포, HEK-293 세포, NS0 세포, PER.C6® 세포 또는 Sp2.0 세포인 숙주 세포.
- [0366] E126. E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자 또는 E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물.
- [0367] E127. E126에 있어서, HEPES 완충-염수를 추가로 포함하는 제약 조성물.
- [0368] E128. E126에 있어서, E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자 또는 E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자가 약 0.015, 약 0.15 또는 약 1.5 mg/mL의 농도로 제제화되는 것인 제약 조성물.
- [0369] E129. E123-E125 중 어느 하나의 숙주 세포가 CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 발현하는 조건 하에 이러한 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 제조하는 방법.
- [0370] E130. E129에 있어서, 폴리펩티드 분자를 단리하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0371] E131. E129 또는 E130의 방법을 사용하여 생산된 폴리펩티드 분자.
- [0372] E132. CD2의 활성의 감소, 예를 들어 CD2 신호전달의 감소를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 CD2의 활성을 감소시키는, 예를 들어 CD2 신호전달을 감소시키는 방법.
- [0373] E133. CD2-발현 세포, 예를 들어 CD2-발현 기억 T 세포, 예를 들어 CD2-발현 T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 CD2-발현 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포 또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포의 수의 감소를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD2-발현 기억 T 세포, 예를 들어 CD2-발현 T<sub>EM</sub> 세포, 예를 들어 CD2-발현 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포 또는 CD8+ T<sub>EM</sub> 세포의 수를 감소시키는 방법.
- [0374] E134. 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/T<sub>EM</sub> 비 또는 Treg/T<sub>CM</sub> 비의 증가를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서, 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/T<sub>EM</sub> 비 또는 Treg/T<sub>CM</sub> 비를 증가시키는 방법.

- [0375] E135. CD2와 자연-존재 LFA3 분자 사이의 상호작용의 파괴를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 CD2와 자연-존재 LFA3 분자 사이의 상호작용을 파괴하는 방법.
- [0376] E136. 염증성 질환, 장애 또는 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 염증성 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 방법.
- [0377] E137. 자가면역 질환, 장애 또는 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 자가면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 방법.
- [0378] E138. 면역억제를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 면역억제를 필요로 하는 대상체를 치료하는 방법.
- [0379] E139. 이상 기억 T 세포 반응과 연관되거나 이에 의해 매개되는 질환, 장애 또는 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 이상 기억 T 세포 반응과 연관되거나 이에 의해 매개되는 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 방법.
- [0380] E140. E132-E139 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 인간인 방법.
- [0381] E141. E132-E140 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물을 피하로, 근육내로 또는 정맥내로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0382] E142. E141에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물을 피하로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0383] E143. E141에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물을 근육내로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0384] E144. E141에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물을 정맥내로 투여하는 것을 포함하는 방법.
- [0385] E145. E132-E144 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물의 투여가 하기 특성:
  - [0386] i. 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 1주 2회, 1주 1회, 2주마다 1회 또는 3주마다 1회, 예를 들어 1주 1회 투여됨,
  - [0387] ii. 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 약 5-20 mg/주 (예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17 또는 20 mg/주), 예를 들어 약 7.5 mg/주의 용량으로 투여됨,
  - [0388] iii. 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 주사당 약 0.2-8 mg (예를 들어, 주사당 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5 또는 8 mg), 예를 들어 주사당 0.22-7.5 mg 또는 주사당 7.5 mg의 용량으로 투여됨,
  - [0389] iv. 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 주사당 약 0.5-2.0 ml 용액 (예를 들어, 주사당 0.5, 1 또는 1.5 ml 용액), 예를 들어 주사당 약 1 ml 용액으로 투여됨, 또는
  - [0390] v. 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 1회 이상의 과정 동안 투여되고, 예를 들어 여기서 각각의 과정은 10-14주 (예를 들어, 10, 11, 12, 13 또는 14주), 예를 들어 12주로 이루어지고, 여기서 2개의 인접 과정은 10 내지 14주 간격 (예를 들어, 10, 11, 12, 13 또는 14-주 간격), 예를 들어 12-주 간격으로 이격됨
  - [0391] 중 1개 이상을 갖고,
  - [0392] 임의로 여기서 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물은 약 15 mg/주의 용량으로 1주 1회 이하

로 투여되고, 예를 들어 여기서 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물은 1회 이상의 과정 동안 투여되고, 여기서 각각의 과정은 12주로 이루어지고, 2개의 인접 과정은 12-주 간격으로 이격되어 있는 것인

- [0393] 방법.
- [0394] E146. E132-E144 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 약 0.03, 약 0.3, 약 3 또는 약 100 mg/kg의 용량으로 투여되는 것인 방법.
- [0395] E147. E132-E144 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 약 2 mL/kg의 용량 부피로 투여되는 것인 방법.
- [0396] E148. E132-E144 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 약 7.5 mg/주의 용량으로 피하로 투여되는 것인 방법.
- [0397] E149. E132-E144 중 어느 하나에 있어서, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물이 매주 투여되는 것인 방법.
- [0398] E150. E1-E116 및 E126-E128 중 어느 하나에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물.
- [0399] E151. E1-E116 및 E126-E128 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서 CD2의 활성을 감소시키는데 사용하기 위한 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물.
- [0400] E152. E1-E116 및 E126-E128 중 어느 하나에 있어서, 면역억제를 필요로 하는 대상체를 치료하는데 사용하기 위한 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물.
- [0401] E153. E1-E116 및 E126-E128 중 어느 하나에 있어서, 대상체에서 자가면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하는데 사용하기 위한 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물.
- [0402] E154. E132-E153 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 하기 질환, 장애 또는 상태: 제1형 당뇨병, 건선, 판상 건선, 수장족저 농포증, 손발바닥의 농포성 건선, 수장족저의 농포증, 손발바닥의 농포증, 아토피성 피부염, 편평 태선, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 백반증, 모공성 홍색 비강진, 이식 (예를 들어, 기관 이식, 예를 들어 신장 이식), 건선성 관절염, 동종 조혈 줄기 세포 이식이 요구되는 질환, 장애 또는 상태, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 질환, 글라즈만 혈소판무력증, 비스코트-알드리치 증후군, 만성-육아종성 질환, 중증 선천성 호중구감소증, 백혈구 부착 결핍, 슈바크만-다이아몬드 증후군, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 판코니 빈혈, 선천성 이상각화증, 체디악-히가시 증후군, 재생불량성 빈혈, 원형 탈모증, 및 T 세포 림프종 (예를 들어, 피부 T-세포 림프종 또는 말초 T-세포 비-호지킨 림프종) 중 1개 이상을 갖는 것인 방법 또는 용도.
- [0403] E155. E132-E153 중 어느 하나에 있어서, 대상체가 하기 질환, 장애 또는 상태: 당뇨병 (예를 들어 제1형 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병); 소아 발병 당뇨병; 염증 반응, 예컨대 건선 및 피부염 (예를 들어 아토피성 피부염)을 포함한 염증성 피부 질환; 피부근염; 전신 경피증 및 경화증; 염증성 장 질환과 연관된 반응 (예컨대 크론병 및 궤양성 결장염); 호흡 곤란 증후군 (성인 호흡 곤란 증후군; ARDS 포함); 피부염; 수막염; 뇌염; 포도막염; 결장염; 위염; 사구체신염; 알레르기성 상태, 예컨대 습진 및 천식 및 T 세포의 침윤을 수반하는 다른 상태 및 만성 염증 반응; 아테롬성동맥경화증; 백혈구 부착 결핍; 류마티스 관절염; 전신 홍반성 루푸스 (SLE); 다발성 경화증; 레이노 증후군; 자가면역 갑상선염; 알레르기성 뇌척수염; 쇼그렌 증후군; 및 결핵, 사르코이드증, 다발근염, 육아종증 및 혈관염에서 전형적으로 발견되는 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연형 과민성과 연관된 면역 반응; 베게너병; 악성 빈혈 (애디슨병); 백혈구 누출을 수반하는 질환; 중추 신경계 (CNS) 염증성 장애; 다발성 기관 손상 증후군; 용혈성 빈혈 (한랭글로불린혈증 또는 쿨스 양성 빈혈을 포함하나 이에 제한되지는 않음); 중증 근무력증; 항원-항체 복합체 매개 질환; 항-사구체 기저막 질환; 항인지질 증후군; 알레르기성 신경염; 그레이브스병; 램버트-이튼 근무력 증후군; 수포성 유선포창; 천포창; 자가면역 다발내분비병증; 백반증; 라이터병; 강직-인간 증후군; 베체트병; 거대 세포 동맥염; 면역 복합체 신염; IgA 신병증; IgM 다발신경병증; 면역 혈소판감소성 자반증 (ITP) 또는 자가면역 혈소판감소증 및 자가면역 용혈성 질환; 하시모토 갑상선염; 자가면역 간염; 자가면역 혈우병; 자가면역 림프증식성 증후군 (ALPS); 자가면역 포도막망막염; 길랑-바레 증후군; 굿패스처 증후군; 혼합 결합 조직 질환; 자가면역-연관 불임; 결절성 다발동맥염; 원형 탈모증; 특발성 점액수종; 이식편 대 숙주 질환; 근육 이영양증 (뒤시엔느, 베커, 근긴장성, 지대, 안면견갑상완, 선천성, 안인두, 원위, 에머리-드레이푸스); 및 염증성 비-면역 질환, 예컨대 심장 질환 또는 뇌 질환 중 1개 이상을 갖는 것인 방법 또는 용도.

- [0404] E156. E132-E153 중 어느 하나에 있어서,
- [0405] i. 대상체가 당뇨병을 갖거나,
- [0406] ii. 대상체가 제1형 당뇨병 (T1D)을 갖거나,
- [0407] iii. 대상체가 새로운 발병 T1D를 갖거나,
- [0408] iv. 대상체가 잔류  $\beta$  세포 기능을 갖는 새로운 발병 T1D를 갖거나,
- [0409] v. 대상체가 100일 미만 동안 새로운 발병 T1D로 진단되거나,
- [0410] vi. 대상체가 당뇨병전기의 T1D 환자인거나,
- [0411] vii. 대상체가 2기 T1D를 갖거나, 예를 들어 대상체가 이상혈당증을 나타내고/거나, 전구증상 질환을 갖고/거나, 적어도 2종의 T1D-연관 자가항체에 대해 양성이거나,
- [0412] viii. 대상체가 3기 T1D를 갖거나, 예를 들어 대상체가 고혈당증을 나타내고/거나, 증후성 질환을 갖고/거나, 적어도 2종의 T1D-연관 자가항체에 대해 양성이거나, 또는
- [0413] ix. 대상체가 1종 이상의 T1D-연관 자가항체에 대해 양성인
- [0414] 방법 또는 용도.
- [0415] E157. E132-E156 중 어느 하나에 있어서, 대상체에게 제2 요법을 투여하는 것을 추가로 포함하며, 임의로 여기서 제2 요법은 Treg의 활성을 촉진하거나 또는 Treg의 수를 증가시키고, 임의로 여기서 제2 요법은 IL-2를 포함하는 것인 방법 또는 용도.
- [0416] E158. E156에 있어서, 대상체가 당뇨병, 예를 들어 제1형 당뇨병, 예를 들어 새로운 발병 제1형 당뇨병을 갖고, 제2 요법이 인슐린을 포함하는 것인 방법 또는 용도.
- [0417] E159. 샘플, 조직 또는 세포를 E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물과 접촉시키고, 폴리펩티드 분자, 다량체 단백질 분자 또는 제약 조성물을 검출하는 것을 포함하는, E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 사용하여 샘플, 조직 또는 세포에서 CD2를 검출하는 방법.
- [0418] E160. E1-E111 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자, E112-E116 중 어느 하나의 다량체 단백질 분자 또는 E126-E128 중 어느 하나의 제약 조성물을 포함하는 키트.
- [0419] E161. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0420] 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 69의 아미노산 서열에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,
- [0421] 여기서 폴리펩티드 분자는 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인
- [0422] 단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체.
- [0423] E162. E161에 있어서,
- [0424] 폴리펩티드 분자가 서열식별번호: 69의 아미노산 서열에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고,
- [0425] 폴리펩티드 분자가 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인
- [0426] 단리된 폴리펩티드 분자 또는 그의 기능적 변이체.
- [0427] E163. E161 또는 E162에 있어서, 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0428] E164. 서열식별번호: 17-41로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 LFA3 도메인을 포함하는, CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체이며, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

- [0429] E165. E164에 있어서, 아미노산 서열이 서열식별번호: 17, 18, 19, 20, 21, 22 또는 23이고, LFA3 도메인이 Leu의 아미노산 잔기 또는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0430] E166. E164에 있어서, LFA3 도메인이 서열식별번호: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, LFA3 도메인이 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0431] E167. E164 또는 E166에 있어서, LFA3 도메인이 서열식별번호: 26의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드.
- [0432] E168. LFA3 도메인을 포함하는 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체이며,
- [0433] 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43 및 86에서의 1개 이상의 돌연변이를 갖는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 것인
- [0434] 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0435] E169. E168에 있어서, LFA3 도메인이 Leu의 아미노산 잔기 또는 LESLPS (서열식별번호: 118)의 아미노산 서열을 추가로 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0436] E170. E168 또는 E169에 있어서, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43 및 86에서의 1개 이상의 돌연변이가 A36V, L38F, F43V 및 M86F인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0437] E171. E164-E170 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인을 추가로 포함하며,
- [0438] 여기서 제2 도메인은 이뮤노글로불린 단백질, 예를 들어 중쇄 불변 영역, 예를 들어 인간 중쇄 불변 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나;
- [0439] 여기서 제2 도메인은 중쇄 (예를 들어, 인간 IgG1 중쇄)의 Fc 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하거나; 또는
- [0440] 여기서 제2 도메인은 힌지 영역, CH2 영역 및 CH3 영역 또는 그의 기능적 변이체를 포함하는 것인
- [0441] 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0442] E172. E164-E171 중 어느 하나에 있어서, 제2 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 제2 도메인은 서열식별번호: 16에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0443] E173. E172에 있어서, 제2 도메인이 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0444] E174. E171-E173 중 어느 하나에 있어서, 링커를 추가로 포함하며, 여기서 링커는 제2 도메인의 N-말단을 LFA3 도메인의 C-말단에 연결하는 것인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0445] E175. E171-E174 중 어느 하나에 있어서,
- [0446] i. 제2 도메인이, 예를 들어 분자간 디설피드 결합을 통해 또 다른 제2 도메인과 이량체를 형성할 수 있고/거나,
- [0447] ii. 제2 도메인이 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC)을 매개할 수 있는 것인
- [0448] 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.
- [0449] E176. E171-E175 중 어느 하나에 있어서,
- [0450] LFA3 도메인이 서열식별번호: 26에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 폴리펩티드는 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않고;
- [0451] Fc 도메인이 서열식별번호: 16에 대해 적어도 90% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것인
- [0452] 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체.

- [0453] E177. E171-E175 중 어느 하나에 있어서,
- [0454] 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체가 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하고,
- [0455] 여기서 아미노산 서열은 서열식별번호: 4에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43, 86, 92, 228 및 230에서의 1개 이상의 돌연변이를 포함하는 것인
- [0456] 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체,
- [0457] E178. E177에 있어서, 서열식별번호: 4에 따라 넘버링된 잔기 36, 38, 43, 86, 92, 228 및 230에서의 1개 이상의 돌연변이가 A36V, L38F, F43V, M86F, V92\_D93insL, D228E 및 L230M인 단리된 폴리펩티드 또는 그의 단편.
- [0458] E179. CD2에 결합하는, 예를 들어 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 하기 특성 중 1개 이상을 갖는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0459] i. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 약 70, 75, 80, 85, 90 또는 95% 더 높은 단량체의 백분율에 의해 입증된, 증진된 단량체 발현,
- [0460] ii. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 약 75, 80, 85, 90 또는 95% 초과인 단량체의 백분율, 약 10, 8, 6, 4 또는 2% 미만인 저분자량 중 (LMWS)의 백분율 및/또는 5, 2 또는 1% 미만인 고분자량 중 (HMWS)의 백분율에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 단량체 발현 및 감소된 다량체 발현,
- [0461] iii. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 37.4°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 90, 92 또는 95% 초과인 단량체의 백분율에 의해 입증되고/거나 40°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 75, 80 또는 85% 초과인 단량체의 백분율을 나타내는, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- [0462] iv. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 40°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15 또는 20% 이하의 증가 및/또는 50°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15, 20 또는 25% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향,
- [0463] v. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 5시간 동안 낮은 pH에서 HMWS의 약 6, 7, 8 또는 9% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 낮은 pH 하의 감소된 응집 경향,
- [0464] vi. 모세관 겔 전기영동 (CGE) 또는 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)를 사용하여 측정시, 40°C에서 2 또는 4주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1, 2, 3, 4 또는 5% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0465] vii. 예를 들어 SE-HPLC를 사용하여 측정시, 25°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0466] viii. 예를 들어 SE-HPLC를 사용하여 측정시, 5°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가 및/또는 LMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타내는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성,
- [0467] ix. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 측정시, 5회 사이클의 동결-해동 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 동결-해동 안정성,
- [0468] x. 20mL Expi293 배양물당 약 5.5, 6, 6.5 또는 7 mg 초과인 수율에 의해 입증된, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 수율,
- [0469] xi. 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 측정시, 약 38, 40, 42, 45 또는 50°C 초과인 T<sub>m</sub>에 의해 입증된, 서열식별번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된 T<sub>m</sub>,
- [0470] xii. DSF에 의해 측정시, 약 40, 45, 50, 55 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산

서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,

- [0471] xiii. 시차 주사 열량측정법 (DSC)에 의해 측정시, 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,
- [0472] xiv. DSC에 의해 측정시, pH 7.5에서 약 55, 58, 60, 62, 64 또는 66°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인  $T_{m2}$ ; pH 5.8에서 약 55, 58, 60, 62 또는 64°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인  $T_{m2}$ ; 또는 pH 4.5에서 약 55, 58 또는 60°C 초과인  $T_{m1}$  및 약 75, 78 또는 80°C 초과인  $T_{m2}$ ,
- [0473] xv. DSC에 의해 측정시, pH 7.5 또는 pH 4.5에서 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$  또는 pH 5.8에서 약 50 또는 62°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,
- [0474] xvi. DSC 및 패브리케이터 IdeS에 의해 측정시, 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ ,
- [0475] xvii. SPR에 의해 측정시, 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.2, 1, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1 또는 0.08  $\mu\text{M}$  미만인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0476] xviii. SPR에 의해 측정시, 인간 CD2에 대한  $K_D$ 가 약 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu\text{M}$  미만이고/거나 시노몰구스 CD2에 대한  $K_D$ 가 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu\text{M}$  미만인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0477] xix. SPR에 의해 측정시, CD4  $T_{mem}$  세포에의 결합에 대한  $K_d$ 가 약 100, 200, 300 또는 400pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0478] xx. SPR에 의해 측정시, 예를 들어 표 10 및 도 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 SPR 및/또는 방법을 사용하여 측정시, CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200 또는 1500 pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 150, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 또는 800 pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; 및/또는 CD8 천연 T 세포에의 결합에 대한 계산된 IC50이 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1600 또는 1700 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0479] xxi. SPR에 의해 측정시, CD4 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하; CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하; CD4+  $T_{CM}$  세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하; CD4 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200, 300 또는 400 pM 이하; 확장된 CD4 Treg 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 100, 200 또는 300 pM 이하; CD8 기억 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 50, 100 또는 150 pM 이하; CD8 나이브 T 세포에의 결합에 대한 계산된  $K_d$ 가 약 50, 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0480] xxii. SPR에 의해 측정시, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 시노몰구스 CD4+  $T_{EM}$  세포에의 결합에 대한 감소된 EC50에 의해 입증된, CD2-발현 세포에 대한 증진된 결합 친화도,
- [0481] xxiii. 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정을 사용하여 측정시, 사멸 CD4  $T_{mem}$  세포에 대한 EC50이 약 400, 600, 800, 1000, 1200 또는 1400pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,
- [0482] xxiv. 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 검정을 사용하여 측정시, 사멸 CD8  $T_{mem}$  세포에 대한 EC50이 약 1,

5, 10, 20, 30, 40 또는 50 nM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성,

- [0483] xxv. 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에 대한 IC50이 약 400, 800, 1200, 1600, 2000 또는 2400 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 T 세포 증식 및/또는 시토카인 생산인 동종 T 세포 반응의 증진된 억제,
- [0484] xxvi. NK 세포의 부재 하의 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정에 대한 IC50이 약 330, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500 또는 2000 pM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 T 세포 증식 및/또는 시토카인 생산인 동종 T 세포 반응의 증진된 억제,
- [0485] xxvii. 과상풍 특소이드 회상 (TTR) 검정에서 측정시, CD4 T<sub>mem</sub> IFN $\gamma$  생산에 대한 IC50이 약 1, 2, 5, 10, 15, 20 또는 25nM 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 과상풍 특소이드 회상 반응의 증진된 억제,
- [0486] xxviii. PK/PD 연구에 의해 측정시, 중심으로부터의 클리어런스가 약 0.14, 0.16, 0.18, 0.2 또는 0.22 mL/hr/kg 이하인 것에 의해 입증된, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 더 느린 생체내 클리어런스, 및/또는
- [0487] xxix. 모세관 겔 전기영동을 사용하여 측정시, 적어도 약 98% 또는 99%인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 순도.
- [0488] E180. E161-E179 중 어느 하나의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 코딩하는 단리된 핵산.
- [0489] E181. E180에 있어서, 서열식별번호: 43, 53 및/또는 123에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.
- [0490] E182. E180 또는 E181에 있어서, 서열식별번호: 43, 53 및/또는 123의 핵산 서열을 포함하는 단리된 핵산.
- [0491] E183. E180-E182 중 어느 하나의 핵산을 포함하는 벡터.
- [0492] E184. E180-E182 중 어느 하나의 핵산 분자 또는 E183의 벡터를 포함하는 숙주 세포.
- [0493] E185. E184에 있어서, Expi293 세포, ExpiCHO 세포, CHO 세포, COS 세포, HEL-293 세포, NSO 세포, PER.C6 세포 또는 SP2.0 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 포유동물 세포인 숙주 세포.
- [0494] E186. E184 또는 E185에 있어서, Expi293 세포 또는 ExpiCHO 세포인 숙주 세포.
- [0495] E187. E161-E179 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자 및 제약상 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물.
- [0496] E188. E187에 있어서, 7.5 mg의 E161-E179 중 어느 하나의 폴리펩티드 분자 및 HEPES 완충 염수를 포함하는 제약 조성물.
- [0497] E189. E184-E186 중 어느 하나의 숙주 세포가 CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 발현하는 조건 하에 이러한 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자를 제조하는 방법.
- [0498] E190. E189에 있어서, 폴리펩티드 분자를 단리하는 것을 추가로 포함하는 방법.
- [0499] E191. E161-E179, E187 및 E188 중 어느 하나에 있어서, 면역억제를 필요로 하는 대상체를 치료하는데 사용하기 위한 단리된 폴리펩티드 또는 제약 조성물.
- [0500] E192. 면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하기 위한 E161-E179 중 어느 하나의 단리된 폴리펩티드 또는 E187 또는 E188의 제약 조성물의 용도.
- [0501] E193. CD2에 의해 매개되는 면역 질환, 장애 또는 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 인간 대상체에게 유효량의 E187 또는 E188의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 질환, 장애 또는 상태는 제1형 당뇨병, 건선, 판상 건선, 수장족저 농포증, 손발바닥의 농포성 건선, 수장족저의 농포증, 손발바닥의 농포증, 아토피성 피부염, 편평 태선, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 백반증, 모공성 홍색 비강진, 이식 (예를 들어, 기관 이식, 예를 들어 신장 이식), 건선성 관절염, 동종 조혈 줄기 세포 이식이 요구되는 질환, 장애 또는 상태, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 질환, 글라즈만 혈소판무력증, 비스코트-알드리치 증후군, 만성-육아종성 질환, 중증 선

천성 호중구감소증, 백혈구 부착 결핍, 슈바크만-다이아몬드 증후군, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 판코니 빈혈, 선천성 이상각화증, 체디아크-히가시 증후군, 재생불량성 빈혈, 원형 탈모증, 및 T 세포 림프종 (예를 들어, 피부 T-세포 림프종 또는 말초 T-세포 비-호지킨 림프종)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 상기 인간 대상체에서 CD2에 의해 매개되는 면역 질환, 장애 또는 상태를 치료 또는 예방하는 방법.

[0502] E194. E193에 있어서, 상기 질환이 당뇨병, 예를 들어 제1형 당뇨병 (T1D), 예를 들어 새로운 발병 T1D, 예를 들어 잔류  $\beta$  세포 기능을 갖는 새로운 발병 T1D (예를 들어, 대상체가 100일 미만 동안 진단됨), 예를 들어 2기 또는 3기 T1D인 방법.

[0503] E195. 면역 질환, 장애 또는 상태를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 E161-E179 중 어느 하나의 단리된 폴리펩티드의 용도.

[0504] E196. 샘플, 조직 또는 세포를 E161-E179 중 어느 하나의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체와 접촉시키고, 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 검출하는 것을 포함하는, E161-E179 중 어느 하나의 단리된 폴리펩티드 또는 그의 기능적 변이체를 사용하여 샘플, 조직 또는 세포에서 CD2를 검출하는 방법.

[0505] E197. E132-E153에 있어서, 대상체가 건선성 관절염을 갖는 것인 방법 또는 용도.

### 도면의 간단한 설명

[0506] 본 발명의 상기 개요뿐만 아니라 하기 발명의 상세한 설명은 첨부 도면과 함께 읽을 경우 더 잘 이해될 것이다. 본 발명을 예시하기 위한 목적으로 실시양태(들)가 도면에 제시된다. 그러나, 본 발명이 제시된 정확한 배열 및 수단으로 제한되지는 않는다는 것을 이해해야 한다.

도 1: 제1 세대 안정성 (S) 및 친화도 + 안정성 (AS) 효모 디스플레이 라이브러리에 대한 구조-기반 라이브러리 설계. 16개의 코어 (S 및 AS 라이브러리) 및 15개의 접촉 잔기 (AS 라이브러리) 잔기를 4-6개의 화학적으로 유사한 잔기로 돌연변이시켰다. 도 1에 제시된 잔기는 서열식별번호: 2에 따라 넘버링된다.

도 2a-2d: 6개의 핫스팟 위치가 확인된 효모 디스플레이 라이브러리로부터 확인된 클론에서의 아미노산 변이의 빈도. 도 2a는 확인된 6개의 핫스팟 잔기를 보여주는 그래프이다. 이들 6개의 잔기는 서열식별번호: 2에 따라 넘버링된다. 도 2b에서, 라이브러리에서의 표적화된 LFA3 잔기는 볼드체로 제시되고, 6개의 핫스팟 잔기는 볼드체 및 밑줄로 제시된다. 도 2c는 6개의 핫스팟 위치에서의 아미노산 변이 빈도를 보여주는 그래프이다. 도 2d는 6개의 재조합 변이체 M1-M6의 설계를 보여주는 표이다. 핫스팟 위치의 아미노산 잔기는 각각의 변이체에 대해 명시된다.

도 3a-3d: 야생형 LFA3 (LFA3 WT) 및 M1-M6 변이체 Fc 융합 단백질의 분자 평가를 도시하는 예시적인 그래프. "LFA3 WT-Pfe" 및 "WT-Pfe"는 WT LFA3-Pfe를 지칭한다.

도 4: 증가된 결합 친화도를 갖는 클론을 확인하기 위한 FG 루프 라이브러리의 구조-기반 설계. 제2 세대 라이브러리에서의 돌연변이유발에 대해 표적화된 잔기는 도 4의 표에 제시된다. 잔기 위치는 서열식별번호: 2에 따라 넘버링된다.

도 5a 및 5b: 고친화도 LFA3 변이체의 예시적인 특징화. 클론을 비아코어 검정 (SPR)에서 재조합 CD2에 대한 결합 친화도 (도 5a) 및 DSF에 의해 열 안정성 (도 5b)에 대해 평가하였다. "LFA3-WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다. "LFA3-Pfe"는 WT LFA3-Pfe를 지칭한다.

도 6a-6d: 도메인 경계 변이체 d1의 합리적 설계. 야생형 LFA3 서열 (LFA3-Fc d1) 또는 안정성 M-변이체 (M1-d1 ("M1d1"로도 지칭됨) 및 M4-d1 ("M4d1"로도 지칭됨))를 사용한 단량체 발현 및 열 안정성에 대한 추가의 내인성 류신 잔기 (d1)를 함유하는 LFA3-Fc 단백질의 예시적인 특징화. 도 6c에서의 "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다. 도 6d에서의 "Pfe"는 WT LFA3-Pfe를 지칭한다.

도 7a-7d: 인간 및 시노 CD2에 대한 도메인 경계 변이체 M1-d1 ("M1d1"로도 지칭됨) 및 M1-d3 ("M1d3"으로도 지칭됨) 친화도 및 열 안정성 (DSF).

도 8a-8d: M7-d1의 설계 및 특징화. 도 8b, 8c 및 8d에는 각각 SEC 분석, 열 안정성 분석 및 친화도 분석으로부터의 예시적인 결과가 제시된다. 도 8c에서의 "LFA3-WT" 및 도 8d에서의 "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다. 도 8c에서의 "LFA3-Pfe"는 WT LFA3-Pfe를 지칭한다.

도 9 및 10: 휴지기 인간 PBMC 상에서의 CD2 수준 (도 9) 및 항-CD3/CD28 비드에 의한 TCR 활성화 후의 CD2 수

준 (도 10)을 도시하는 예시적인 그래프. 4명의 공여자로부터의 평균  $\pm$  SEM이 도 9에 제시되고, 단일 공여자가 도 10에 제시된다. 데이터는 세포당 분자의 평균 수 (+/- SD)로서 표현된다. NK = 자연 킬러; eff mem = 이펙터 기억; cen mem = 중심 기억; Treg = T 조절.

도 11: 항-CD2 항체와의 경쟁적 결합 검정을 사용한 1차 인간 T 세포 집단에 대한 예시적인 LFA3-Fc 결합. 검정을 삼중으로 실행하였으며, 평균  $\pm$  표준 편차가 플롯팅되어 있다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 12a-12e: 예시적인 인간 PBMC ADCC 검정. PBMC를 증가량의 LFA3-Fc 단백질 (LFA3-Fc M1d1 또는 LFA3-Fc WT)과 공동-배양하였으며, 기억 CD4 (예를 들어, CD4 CD45RO+) 세포의 세포독성이 도 12a에 플롯팅되어 있다. 공여자에 걸친 EC50이 도 12b에 제시된다. LFA3-Fc 단백질에 의한 CD4 비-기억 세포 (예를 들어, CD4 CD45RO-), CD8 기억 세포 (예를 들어, CD8 CD45RO+) 및 CD8 비-기억 세포 (예를 들어, CD8 CD45RO-)의 예시적인 농도 의존성 세포독성이 도 12c-12e에 도시된다. 데이터 포인트는 평균 (n=5) +/- SEM을 나타낸다.

도 13a-13c: 고정량의 LFA3-Fc M1d1 또는 LFA3-Fc WT의 표적 세포와 공동-배양된 정제된 NK 세포를 사용한 세포독성 검정을 도시하는 예시적인 그래프. 도 13a: 표적 세포 (CD4 기억 세포)를 250 nM 단백질과 함께 인큐베이션하였다. 5명의 공여자 중 1명에 대한 삼중 웰의 평균  $\pm$  표준 편차가 제시된다. 표적 세포 (CD4 나이브, CD4 기억 또는 B 세포)를 100 nM LFA3-Fc WT (도 13b) 또는 LFA3-Fc M1d1 (도 13c) 및 NK 세포 (이펙터 세포)와 함께 다양한 이펙터 대 표적 세포 비로 인큐베이션하였다. 1명의 공여자에 대한 삼중 웰의 평균  $\pm$  표준 편차가 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 14a 및 14b: 동종 자극 (MLR)에 반응한 CD4+ T 세포 확장의 LFA3-Fc M1d1 ("M1d1") 완전 억제를 도시하는 예시적인 그래프. 단일 공여자에 대한 삼중 웰의 평균 +/- 표준 편차가 도 14a에 제시된다. 다중 공여자에 걸친 IC<sub>50</sub>이 도 14b에 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 15a-15c: NK 세포의 부재 하의 MLR의 LFA3-Fc M1d1 ("M1d1") 억제를 도시하는 예시적인 그래프. NK 세포는 자기 단리를 사용하여 무혜손시키거나 (도 15a) 또는 고갈시켰다 (도 15b). 단일 공여자에 대한 삼중 웰의 평균 +/- 표준 편차가 도 15a 및 15b에 제시된다. 반복 실험에 걸친 IC<sub>50</sub>이 도 15c에 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 16a 및 16b: 항원 과상포 특소이드 (TT)에 대한 CD4 기억 회상 반응의 LFA3-Fc M1d1 ("M1-d1") 억제를 도시하는 예시적인 그래프. 단일 공여자에 대한 삼중 웰의 평균 +/- 표준 편차가 도 16a에 제시된다. 다중 공여자에 걸친 IC<sub>50</sub>이 도 16b에 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 17: 시노물구스 원숭이 PBMC 상에서의 예시적인 CD2 발현. N = 6; 데이터는 세포당 분자의 평균 수 (+/- SD)로서 표현된다. NK = 자연 킬러; eff mem = 이펙터 기억; cen mem = 중심 기억; Treg = T 조절.

도 18a 및 18b: 예시적인 시노 PBMC ADCC 검정. 시노물구스 원숭이 PBMC를 증가량의 LFA3-Fc 폴리펩티드 (M1d1 또는 WT)와 공동-배양하였으며, CD4+ T<sub>EM</sub> 세포의 세포독성이 플롯팅되어 있다. 단일 공여자에 대한 삼중 웰의 평균 +/- 표준 편차가 도 18a에 제시된다. 3명의 공여자에 대한 EC50이 도 18b에 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 19: 시노물구스 원숭이 반복 용량 PK/PD 연구 17MA057의 실험 설계.

도 20a 및 20b: LFA3-Fc M1d1은 반복 투여 (흑색 화살표) 후 CD4+ T<sub>EM</sub>을 감소시키고 Treg/CD4+ T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다. 예시적인 데이터는 투여전 세포 수와 비교한 배수 변화로서 플롯팅되어 있다. 4마리 동물의 평균 +/- SEM이 제시된다.

도 21: LFA3-Fc M1d1 처리는 기억 T 세포에 대해 더 큰 영향을 미친다. 예시적인 데이터는 투여전 세포 수와 비교한 배수 변화로서 플롯팅되어 있다. 4마리 동물의 평균 +/- SEM이 제시된다.

도 22a 및 22b: LFA3-Fc WT는 반복 투여 후 CD4+ T<sub>EM</sub>을 감소시키고 Treg/CD4+ T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다. 예시적인 데이터는 투여전 세포 수와 비교한 배수 변화로서 플롯팅되어 있다. 4마리 동물의 평균 +/- SEM이 제시된다. "WT"는 LFA3-Fc WT를 지칭한다.

도 23a 및 23b: 연구 17MA057로부터의 시노물구스 원숭이에서의 M1d1 및 LFA3-Fc WT의 예시적인 PK 프로파일. 용량은 0.03-3 mg/kg에 비례한다.

도 24: LFA3-Fc의 제안된 작용 메커니즘.

도 25a-25b: 퀀티브라이트 비드 및 유동 세포측정법을 사용한 인간 KLRG1+ 대 KLRG1-TIGIT+PD1+ T 헬퍼 세포 하위세트 상에서의 CD2 발현의 예시적인 정량화. 도 25a는 CD4 이펙터 기억 ("EM") 세포에서의 CD2 발현을 도시한다. 도 25b는 CD4 중심 기억 ("CM") 세포에서의 CD2 발현을 도시한다. 데이터는 n = 2 공여자 +/- SD의 기하 평균 형광 강도 (gMFI)로서 표현된다. KLRG1 = 킬러-세포 렉틴 유사 수용체 G1; TIGIT = Ig 및 ITIM 도메인을 갖는 T 세포 면역수용체.

도 26a-26b: 퀀티브라이트 비드 및 유동 세포측정법을 사용한 인간 T 헬퍼 세포 하위세트 상에서의 CD2 발현의 예시적인 정량화. 도 26a 및 도 26b는 서로 다른 2일에 분석된 2명의 공여자를 나타낸다. 데이터는 기하 평균 형광 강도 (gMFI) +/- SD로서 표현된다. CCR7 = C-C 케모카인 수용체 유형 7; PD1 = 프로그램화된 세포 사멸 단백질 1; TH = T 헬퍼; Tfh = T 여포성 헬퍼; Treg = T 조절 세포.

도 27: 트리스 완충제 pH 7.5, 히스티딘 완충제 pH 5.8 또는 글루타메이트 완충제 pH 4.5 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1의 예시적인 시차 주사 열량측정 (DSC) 프로파일.

도 28: 패브리케이터-IdeS를 사용한 소화 후 LFA3-Fc M1d1의 예시적인 시차 주사 열량측정 (DSC) 프로파일.

도 29a-29c: 20 mM 트리스 완충제 pH 7.5 (도 29a), 20 mM 히스티딘 완충제 pH 5.8 (도 29b) 또는 20 mM 글루타메이트 완충제 pH 4.5 (도 29c) 중에 제제화된 LFA3-Fc M1-d1 (LFA3-Fc M1d1로도 지칭됨) 및 WT LFA3-Fc (LFA3-Fc WT로도 지칭됨)의 예시적인 전하 이중성 분석.

도 30a-30c: 시간 0에서 및 40°C에서 2 또는 4주 동안 저장 후 트리스 완충제 pH 7.5 (도 30a), 히스티딘 완충제 pH 5.8 (도 30b) 또는 글루타메이트 완충제 pH 4.5 (도 30c) 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 예시적인 비-환원 (NR) 모세관 겔 전기영동 (CGE) 분석. 저분자량 종 (LMMS)의 백분율을 정량화하였다.

도 31a-31d: 시간 0에서 및 40°C에서 2 또는 4주 동안 저장 후 트리스 완충제 pH 7.5 (도 31a), 히스티딘 완충제 pH 5.8 (도 31b) 또는 글루타메이트 완충제 pH 4.5 (도 31c) 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 예시적인 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 분석. 저분자량 종 (LMMS) (도 31d) 및 고분자량 종 (HMMS) (도 31a-31c)의 백분율을 정량화하였다.

도 32a-32d: 시간 0에서 및 25°C에서 2, 4 또는 6주 동안 저장 후 트리스 완충제 pH 7.5 (도 32a), 히스티딘 완충제 pH 5.8 (도 32b) 또는 글루타메이트 완충제 pH 4.5 (도 32c) 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 예시적인 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 분석. 저분자량 종 (LMMS) (도 32d) 및 고분자량 종 (HMMS) (도 32a-32c)의 백분율을 정량화하였다.

도 33a-33d: 시간 0에서 및 5°C에서 2, 4 또는 6주 동안 저장 후 트리스/수크로스 완충제 pH 7.5 (도 33a), 히스티딘/수크로스 완충제 pH 5.8 (도 33b) 또는 글루타메이트/트레할로스 완충제 pH 4.5 (도 33c) 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 예시적인 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 분석. 저분자량 종 (LMMS) (도 33d) 및 고분자량 종 (HMMS) (도 33a-33c)의 백분율을 정량화하였다.

도 34a-34b: LFA3-Fc M1d1은 반복 투여 후 CD4+ T<sub>EM</sub>을 감소시키고 Treg/CD4+ T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다. 예시적인 데이터는 투여전 세포 수와 비교한 배수 변화로서 플롯팅되어 있다. 4마리 동물의 평균 +/- SEM이 제시된다.

도 35a-35b: LFA3-Fc WT는 반복 투여 후 CD4+ T<sub>EM</sub>을 감소시키고 Treg/CD4+ T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다. 예시적인 데이터는 투여전 세포 수와 비교한 배수 변화로서 플롯팅되어 있다. 4마리 동물의 평균 +/- SEM이 제시된다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0507] CD2에 결합하고/거나, CD2의 활성을 억제하고/거나, CD2-발현 세포를 고갈시키는 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자, 예를 들어 변이체 LFA3-Fc 융합 폴리펩티드 분자가 본원에 개시된다. LFA3 폴리펩티드 분자를 제조하는 방법, 이들 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 조성물, 및 이들 LFA3 폴리펩티드 분자를 사용하는 방법이 제공된다.

[0508] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 야생형 LFA3 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 안정성 및 제조성 특성을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질)는 야생형 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질)에 비해 CD2에 대한 증가된 결합 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합

단백질)는 야생형 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질)에 비해 CD2-발현 세포에 대한 증진된 세포독성을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질)는 야생형 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질)에 비해 동종 T 세포 반응의 증진된 억제를 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질)는 야생형 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질)에 비해 더 느린 생체내 클리어런스를 나타낸다.

- [0509] LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. LFA3 폴리펩티드 분자를 발현하는 숙주 세포가 제공된다. LFA3 폴리펩티드 분자를 사용하는 치료 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 이러한 방법은 염증성 질환, 장애 또는 상태를 치료하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 이러한 방법은 자가면역 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 면역 억제를 필요로 하는 질환을 치료하는 방법을 포함한다. 한 실시양태에서, 이러한 방법은 염증성 비-면역 질환, 예컨대 심장 질환 또는 뇌 질환을 치료하는 방법을 포함한다.
- [0510] 본원에 사용된 섹션 표제는 단지 조직화 목적을 위한 것이며, 기재된 대상을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0511] 특허 출원, 특허 공개 및 진뱅크 수탁 번호를 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌은 각각의 개별 참고문헌이 구체적으로 및 개별적으로 그 전문이 참조로 포함되는 것으로 표시되는 바와 같이 본원에 참조로 포함된다.
- [0512] 본원에 기재되거나 언급된 기술 및 절차는 일반적으로 널리 이해되고, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd. edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.): PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL, and ANIMAL CELL CULTURE (R. I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); and Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)]; 및 그의 업데이트된 버전에 기재된 폭넓게 이용되는 방법론과 같은 통상적인 방법론을 사용하여 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 사용된다.
- [0513] LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 제1형 당뇨병, 건선, 판상 건선, 수장족저 농포증, 손발바닥의 농포성 건선, 수장족저의 농포증, 손발바닥의 농포증, 아토피성 피부염, 편평 태선, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 백반증, 모공성 홍색 비강진, 이식 (예를 들어, 기관 이식, 예를 들어 신장 이식), 건선성 관절염, 동종 조혈 줄기 세포 이식이 요구되는 질환, 장애 또는 상태, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 질환, 글라즈만 혈소판무력증, 비스코트-알드리치 증후군, 만성-육아종성 질환, 중증 선천성 호중구감소증, 백혈구 부착 결핍, 슈마크만-다이아몬드 증후군, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 판코니 빈혈, 선천성 이상각화증, 체디아-히가시 증후군, 재생불량성 빈혈, 원형 탈모증, 및 T 세포 림프종 (예를 들어, 피부 T-세포 림프종 또는 말초 T-세포 비-호지킨 림프종)을 포함하나 이에 제한되지는 않는 질환, 장애 또는 상태의 예방, 치료 및/또는 호전에 사용될 수 있다. 추가의 예시적인 질환, 장애 또는 상태는 다음이다: 당뇨병 (예를 들어 제1형 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병); 소아 발병 당뇨병; 염증 반응, 예컨대 건선 및 피부염 (예를 들어 아토피성 피부염)을 포함한 염증성 피부 질환; 피부근염; 전신 경피증 및 경화증; 염증성 장 질환과 연관된 반응 (예컨대 크론병 및 궤양성 결장염); 호흡 곤란 증후군 (성인 호흡 곤란 증후군; ARDS 포함); 피부염; 수막염; 뇌염; 포도막염; 결장염; 위염; 사구체신염; 알레르기성 상태, 예컨대 습진 및 천식 및 T 세포의 침윤을 수반하는 다른 상태 및 만

성 염증 반응; 아테롬성동맥경화증; 백혈구 부착 결핍; 류마티스 관절염; 전신 홍반성 루푸스 (SLE); 다발성 경화증; 레이노 증후군; 자가면역 갑상선염; 알레르기성 뇌척수염; 쇼그렌 증후군; 및 결핵, 사르코이드증, 다발 근염, 육아종증 및 혈관염에서 전형적으로 발견되는 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연형 과민성과 연관된 면역 반응; 베케너병; 악성 빈혈 (에디슨병); 백혈구 누출을 수반하는 질환; 중추 신경계 (CNS) 염증성 장애; 다발성 기관 손상 증후군; 용혈성 빈혈 (한랭글로불린혈증 또는 콕스 양성 빈혈을 포함하나 이에 제한되지는 않음); 중증 근무력증; 항원-항체 복합체 매개 질환; 항-사구체 기저막 질환; 항인지질 증후군; 알레르기성 신경염; 그레이브스병; 램버트-이튼 근무력 증후군; 수포성 유천포창; 천포창; 자가면역 다발내분비병증; 백반증; 라이터병; 장직-인간 증후군; 베체트병; 거대 세포 동맥염; 면역 복합체 신염; IgA 신병증; IgM 다발신경병증; 면역 혈소판감소성 자반증 (ITP) 또는 자가면역 혈소판감소증 및 자가면역 용혈성 질환; 하시모토 갑상선염; 자가면역 간염; 자가면역 혈우병; 자가면역 림프증식성 증후군 (ALPS); 자가면역 포도막망막염; 길랑-바레 증후군; 굿패스처 증후군; 혼합 결합 조직 질환; 자가면역-연관 불임; 결정성 다발동맥염; 원형 탈모증; 특발성 점액수종; 이식편 대 숙주 질환; 근육 이영양증 (뒤시엔느, 베커, 근긴장성, 지대, 안면견갑상완, 선천성, 안인두, 원위, 에머리-드레이푸스); 및 염증성 비-면역 질환, 예컨대 심장 질환 또는 뇌 질환.

- [0514] I. 정의
- [0515] 본 발명은 본 발명의 예시적인 실시양태의 하기 상세한 설명 및 그 안에 포함된 실시예를 참조하여 보다 용이하게 이해될 수 있다.
- [0516] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 상충하는 경우에, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다.
- [0517] 추가로, 문맥에 의해 달리 요구되거나 명백하게 나타내지 않는 한, 단수 용어는 복수형을 포함할 것이고, 복수 용어는 단수형을 포함할 것이다.
- [0518] 본원에 기재된 본 발명의 측면 및 실시양태는 측면 및 실시양태로 "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진" 것을 포함하는 것으로 이해된다. 본원에 사용된 단수 형태는 달리 나타내지 않는 한 복수 지시대상을 포함한다.
- [0519] 본 출원에서, "또는"의 사용은 달리 명백하게 언급되지 않거나 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되지 않는 한 "및/또는"을 의미한다. 다중 종속항의 문맥에서, "또는"의 사용은 이전의 하나 초과항의 독립항 또는 종속항을 인용하는 것이다.
- [0520] "약" 또는 "대략"은, 측정가능한 수치 변수와 관련하여 사용될 때, 변수의 표시된 값 및 표시된 값의 실험 오차 내 (예를 들어, 평균에 대한 95% 신뢰 구간 내) 또는 표시된 값의 10 퍼센트 내 중 더 큰 쪽에 있는 변수의 모든 값을 지칭한다. 수치 범위는 범위를 규정하는 수를 포함한다.
- [0521] 본 발명의 넓은 범주를 명시한 수치 범위 및 파라미터는 근사치이지만, 구체적 예에서 명시된 수치 값은 가능한 한 정확하게 기록된 것이다. 그러나, 임의의 수치 값은 그의 각각의 시험 측정에서 확인되는 표준 편차로부터 필연적으로 생성되는 특정 오차를 고유하게 함유한다. 더욱이, 본원에 개시된 모든 범위는 그에 포함된 임의의 및 모든 하위범위를 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, "1 내지 10"으로 언급된 범위는 1의 최소 값과 10의 최대 값 사이 (및 그 자체도 포함)의 임의의 및 모든 하위범위; 즉, 1 또는 그 초과항의 최소 값, 예를 들어 1 내지 6.1로 시작하여 10 또는 그 미만의 최대 값, 예를 들어 5.5 내지 10으로 끝나는 모든 하위범위를 포함하는 것으로 간주되어야 한다.
- [0522] 본 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐, 용어 "포함하다" 또는 변형어, 예컨대 "포함한다" 또는 "포함하는"은 언급된 정수 또는 정수 군을 포함하지만, 임의의 다른 정수 또는 정수 군을 배제하지는 않는다는 것을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 문맥에 의해 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수형을 포함할 것이고, 복수 용어는 단수형을 포함할 것이다. 용어 "예를 들어" 또는 "예를 들면"에 이어지는 임의의 예(들)는 완전한 것으로 또는 제한적인 것으로 의도되지 않는다.
- [0523] 표현 "포함하는"을 사용하여 본원에 기재된 어떠한 실시양태든지, "이루어진" 및/또는 "본질적으로 이루어진"의 관점에서 기재된 다른 유사한 실시양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다.
- [0524] 본 발명의 측면 또는 실시양태가 마쿠쉬(Markush) 군 또는 다른 대안 군의 관점에서 기재되는 경우에, 본 발명은 총괄적으로 열거된 전체 군, 뿐만 아니라 상기 군의 개별인 각각의 구성원, 및 주요 군의 모든 가능한 하위 군, 뿐만 아니라 군 구성원 중 하나 이상이 부재하는 주요 군을 포괄한다. 본 발명은 또한 청구된 발명에서 임

의의 군 구성원 중 하나 이상의 명확한 배제를 고려한다.

- [0525] 본원에 사용된 용어는 특정한 실시양태의 기재를 목적으로 할 뿐이며, 제한적인 것으로 의도되지 않는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서 및 하기 청구범위에서, 하기 의미를 갖는 것으로 정의될 다수의 용어가 언급될 것이다.
- [0526] 용어 "단리된 분자" (분자가, 예를 들어 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드인 경우)는 그의 기원 또는 유래 공급원에 의해 (1) 그의 천연 상태에서 그에 수반되는 자연적으로 회합된 성분과 회합되지 않거나, (2) 동일한 종으로부터의 다른 분자가 실질적으로 없거나, (3) 상이한 종의 세포에 의해 발현되거나, 또는 (4) 자연에서 발생하지 않는 분자이다. 따라서, 화학적으로 합성되거나 또는 그것이 자연적으로 기원하는 세포와 상이한 세포 시스템에서 발현되는 분자는 그의 자연적으로 회합된 성분으로부터 "단리"될 것이다. 관련 기술분야에 널리 공지된 정제 기술을 사용하여, 단리에 의해 자연적으로 회합된 성분이 분자에 실질적으로 없게 할 수 있다. 분자 순도 또는 균질성은 관련 기술분야에 널리 공지된 다수의 수단에 의해 검정할 수 있다. 예를 들어, 폴리아크릴아미드 겔 전기영동을 사용하고 관련 기술분야에 널리 공지된 기술을 사용하여 폴리펩티드를 가시화하도록 겔을 염색하여 폴리펩티드 샘플의 순도를 검정할 수 있다. 특정 목적을 위해, HPLC 또는 정제를 위해 관련 기술분야에 널리 공지된 다른 수단을 사용함으로써 보다 고도의 분해가 제공될 수 있다.
- [0527] 본원에 사용된 "실질적으로 순수한"은 대상 종이 존재하는 미세한 종이이라는 것을 의미하고 (즉, 몰 기준으로 조성물 내의 임의의 다른 개별 종보다 더 풍부함), 바람직하게는 실질적으로 정제된 분획은 대상 종 (예를 들어, 당단백질)이 존재하는 모든 거대분자 종의 적어도 약 50 퍼센트 (몰 기준)를 차지하는 조성물이다. 일반적으로, 실질적으로 순수한 조성물은 조성물에 존재하는 모든 거대분자 종의 약 80 퍼센트 초과, 보다 바람직하게는 약 85%, 90%, 95% 및 99% 초과를 차지할 것이다. 가장 바람직하게는, 대상 종은 본질적으로 균질하게 정제되며 (오염물 종이 통상적인 검출 방법에 의해 조성물에서 검출될 수 없음), 여기서 조성물은 본질적으로 단일 거대분자 종으로 이루어진다. 특정 실시양태에서, 실질적으로 순수한 물질은 적어도 50% 순수하고 (즉, 오염물이 없음), 보다 바람직하게는 적어도 90% 순수하고, 보다 바람직하게는 적어도 95% 순수하고, 보다 더 바람직하게는 적어도 98% 순수하고, 가장 바람직하게는 적어도 99% 순수하다.
- [0528] 용어 "동일성"은, 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 서열을 비교함으로써 결정시, 2종 이상의 폴리펩티드 분자 또는 2종 이상의 핵산 분자의 서열 사이의 관계를 지칭한다. 관련 기술분야에서, "동일성"은 또한, 경우에 따라 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열의 스트링 사이의 매치에 의해 결정되는 폴리펩티드 또는 핵산 분자 서열 사이의 서열 관련성의 정도를 의미한다. "동일성"은 컴퓨터 프로그램의 특정한 수학적 모델 (즉, "알고리즘")에 의해 어드레싱된 겔 정렬에 의해 2개 이상의 서열 사이의 동일한 매치의 퍼센트를 측정한다.
- [0529] 용어 "유사성"은 "동일성"에 관련된 개념이지만, 그와는 대조적으로, 동일한 매치 및 보존적 치환 매치 둘 다를 포함하는 유사성의 척도를 지칭한다. 보존적 치환은 폴리펩티드에 적용되고 핵산 분자에는 적용되지 않기 때문에, 유사성은 단지 폴리펩티드 서열 비교만을 다룬다. 2개의 폴리펩티드 서열이, 예를 들어 20개 중 10개의 동일한 아미노산을 갖고, 나머지는 모두 비-보존적 치환이라면, 퍼센트 동일성 및 유사성은 둘 다 50%일 것이다. 동일한 예에서, 보존적 치환이 있는 위치가 5개 더 있다면, 퍼센트 동일성은 여전히 50%이지만 퍼센트 유사성은 75%일 것이다 (20개 중 15개). 따라서, 보존적 치환이 있는 경우에, 2개의 폴리펩티드 서열 사이의 유사성 정도는 그 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성보다 더 클 것이다.
- [0530] 본 발명에 따른 폴리펩티드 "단편" 또는 "부분"은 말단절단에 의해, 예를 들어 폴리펩티드의 N 및/또는 C-말단 단부로부터 1개 이상의 아미노산을 제거하는 것에 의해 제조될 수 있다. 이러한 방식으로 최대 10개, 최대 20개, 최대 30개, 최대 40개 또는 그 초과 아미노산을 N 및/또는 C 말단으로부터 제거할 수 있다. 단편은 또한, 1개 이상의 내부 결실에 의해 생성될 수 있다.
- [0531] 변이체 분자는 상기 논의된 특정 서열 및 단편으로부터 1, 2, 3, 4, 5개, 최대 10개, 최대 20개 또는 최대 30개 또는 그 초과 아미노산 치환 및/또는 결실 및/또는 삽입을 포함할 수 있다. "결실" 변이체는 개별 아미노산의 결실, 작은 아미노산 군, 예컨대 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산의 결실, 또는 보다 큰 아미노산 영역의 결실, 예컨대 특정 아미노산 도메인 또는 다른 특징부의 결실을 포함할 수 있다. "삽입" 변이체는 개별 아미노산의 삽입, 작은 아미노산 군, 예컨대 2, 3, 4 또는 5개 아미노산의 삽입, 또는 보다 큰 아미노산 영역의 삽입, 예컨대 특정 아미노산 도메인 또는 다른 특징부의 삽입을 포함할 수 있다. "치환" 변이체는, 바람직하게는 1개 이상의 아미노산을 동일한 수의 아미노산으로 대체하는 것 및 보존적 아미노산 치환을 수행하는 것을 수반한다. 예를 들어, 아미노산은 유사한 특성을 갖는 대안적 아미노산, 예를 들어 또 다른 염기성 아미노산, 또 다른 산성 아미노산, 또 다른 중성 아미노산, 또 다른 하전된 아미노산, 또 다른 친수성 아미노산, 또 다른 소수성 아

미노산, 또 다른 극성 아미노산, 또 다른 방향족 아미노산 또는 또 다른 지방족 아미노산으로 치환될 수 있다. 적합한 치환기를 선택하기 위해 사용될 수 있는 20개의 주요 아미노산의 일부 특성은 하기와 같다.

[0532] 치환 변이체는 분자 내의 적어도 1개의 아미노산 잔기가 제거되고 그 위치에 상이한 잔기가 삽입된 것이다. 예시적인 보존적 치환은 표 1에서 "보존적 치환"의 표제 하에 제시된다. 하기 "예시적인 치환"에서 명명되거나 아미노산 부류에 관하여 하기에 추가로 기재된 바와 같은 추가의 치환이 도입되고 생성물이 스크리닝될 수 있다.

[0533] 표 1. 아미노산 및 치환

원래 잔기	보존적 치환	예시적인 치환
알라닌 Ala (A)	Val (V)	Val (V); Leu (L); Ile (I)
아르기닌 Arg (R)	Lys (K)	Lys (K); Gln (Q); Asn (N)
아스파라긴 Asn (N)	Gln (Q)	Gln (Q); His (H); Asp (D), Lys (K); Arg (R)
아스파르트산 Asp (D)	Glu (E)	Glu (E); Asn (N)
시스테인 Cys (C)	Ser (S)	Ser (S); Ala (A)
글루타민 Gln (Q)	Asn (N)	Asn (N); Glu (E)
글루탐산 Glu (E)	Asp (D)	Asp (D); Gln (Q)
글리신 Gly (G)	Ala (A)	Ala (A)
히스티딘 His (H)	Arg (R)	Asn (N); Gln (Q); Lys (K); Arg (R)
이소류신 Ile (I)	Leu (L)	Leu (L); Val (V); Met (M); Ala (A); Phe (F); 노르류신 (Nle)
류신 Leu (L)	Ile (I)	노르류신 (Nle); Ile (I); Val (V); Met (M); Ala (A); Phe (F)
리신 Lys (K)	Arg (R)	Arg (R); Gln (Q); Asn (N)
메티오닌 Met (M)	Leu (L)	Leu (L); Phe (F); Ile (I)
페닐알라닌 Phe (F)	Tyr (Y)	Leu (L); Val (V); Ile (I); Ala (A); Tyr (Y)
프롤린 Pro (P)	Ala (A)	Ala (A)
세린 Ser (S)	Thr (T)	Thr (T)
트레오닌 Thr (T)	Ser (S)	Ser (S)
트립토판 Trp (W)	Tyr (Y)	Tyr (Y); Phe (F)
티로신 Tyr (Y)	Phe (F)	Trp (W); Phe (F); Thr (T); Ser (S)
발린 Val (V)	Leu (L)	Ile (I); Leu (L); Met (M); Phe (F); Ala (A); 노르류신 (Nle)

[0534]

[0535] 분자의 생물학적 특성에 있어서의 실질적인 변형은 (a) 치환 영역에서 폴리펩티드 백본의 구조를, 예를 들어 베타-시트 또는 나선 입체형태로서 유지하거나, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성을 유지하거나, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지하는데에 있어서의 그의 효과 면에서 유의하게 상이한 치환을 선택함으로써 달성된다. 자연 발생 잔기는 공통 측쇄 특성을 기초로 하기 군으로 분류된다:

[0536] i. 비-극성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0537] ii. 비하전 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0538] iii. 산성 (음으로 하전): Asp, Glu;

[0539] iv. 염기성 (양으로 하전): Lys, Arg;

[0540] v. 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및

[0541] vi. 방향족: Trp, Tyr, Phe, His.

[0542] 비-보존적 치환은 이들 부류 중 1개의 구성원을 또 다른 부류로 교환하는 것에 의해 이루어진다.

[0543] 예를 들어, 이루어질 수 있는 한 가지 유형의 치환은 화학적으로 반응성일 수 있는 분자 내의 1개 이상의 시스테인을 또 다른 잔기, 예컨대 비제한적으로 알라닌 또는 세린으로 교체시키는 것이다. 예를 들어, 비-정규 시스테인의 치환이 있을 수 있다. 일부 실시양태에서, 시스테인은 정규 시스테인이다. 또한, 분자의 적절한 입체형태 유지에 관여하지 않는 임의의 시스테인 잔기가 일반적으로 세린으로 치환되어 분자의 산화 안정성을 개선시키고 이상 가교를 방지할 수 있다. 반대로, 시스테인 결합(들)이 분자에 부가되어 그의 안정성을 개선시킬 수 있다.

[0544] "항체"는 이뮤노글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 1개의 항원 인식 부위를 통해, 탄수화물, 폴리뉴클

레오티드, 지질, 폴리펩티드 등과 같은 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 이뮤노글로불린 분자이다. 본원에 사용된 상기 용어는 무손상 폴리클로날 또는 모노클로날 항체뿐만 아니라, 달리 명시되지 않는 한, 특이적 결합에 대해 무손상 항체와 경쟁하는 그의 임의의 항원 결합 부분, 항원 결합 부분을 포함하는 융합 단백질, 및 항원 인식 부위를 포함하는 이뮤노글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 형상을 포괄한다. 항원 결합 부분은, 예를 들어 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, 도메인 항체 (dAb, 예를 들어 상어 및 낙타류 항체), 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한 단편, 단일쇄 가변 단편 항체 (scFv), 맥시바디, 미니바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 비스-scFv, 및 폴리펩티드에 대한 특이적 항원 결합을 부여하기에 충분한 이뮤노글로불린의 적어도 한 부분을 함유하는 폴리펩티드를 포함한다. 디아바디는 작은 펩티드 링커에 의해 연결된 중쇄 가변 (V<sub>H</sub>) 및 경쇄 가변 (V<sub>L</sub>) 영역으로 이루어진 단일쇄 Fv (scFv) 단편의 비공유 이량체를 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 디아바디는 2개의 scFv 단편이 서로 공유 연결된 단일쇄 (Fv)<sub>2</sub>이다. 트리아바디는, 예를 들어 3개의 scFv 단편이 서로 공유 연결된 단일쇄 (Fv)<sub>2</sub>이다.

[0545] 항체는 임의의 부류의 항체, 예컨대 IgG, IgA 또는 IgM (또는 이들의 하위부류)를 포함하고, 항체는 임의의 특정한 부류의 것일 필요는 없다. 항체 중쇄의 불변 영역의 항체 아미노산 서열에 따라, 이뮤노글로불린은 상이한 부류로 배정될 수 있다. 이뮤노글로불린의 5개의 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub> 및 IgA<sub>2</sub>로 추가로 분류될 수 있다. 이뮤노글로불린의 상이한 부류에 상응하는 중쇄 불변 영역은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 지칭된다. 이뮤노글로불린의 상이한 부류의 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다.

[0546] 표적에 "우선적으로 결합"하거나 "특이적으로 결합"하는 (본원에서 상호교환가능하게 사용됨) 분자는 관련 기술 분야에서 널리 이해되는 용어이고, 이러한 특이적 또는 우선적 결합을 결정하는 방법도 또한 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 분자가 대안적 세포 또는 물질보다 특정한 세포 또는 물질과 더 빈번하게, 더 신속하게, 더 큰 지속시간으로 및/또는 더 큰 친화도로 반응하거나 회합하는 경우에, 분자는 "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"을 나타내는 것으로 언급된다. 분자가 다른 물질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 큰 지속시간으로 결합하는 경우에, 분자는 표적에 "특이적으로 결합"하거나 "우선적으로 결합"한다. 또한, 분자는 샘플 중에 존재하는 다른 물질에 결합하는 것보다 샘플 중 표적에 대해 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 긴 지속시간으로 결합하는 경우에, 표적에 "특이적으로 결합"하거나 "우선적으로 결합"한다. 예를 들어, CD2에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 분자는 그것이 다른 CD2 단백질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 긴 지속시간으로 CD2에 결합하는 분자이다. 또한, 이러한 정의는, 예를 들어 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 분자는 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 그렇지 않을 수 있다는 것으로 해석되는 것으로 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 (포함할 수 있지만) 반드시 요구하지 않는다. 일반적으로, 반드시 아니지만, 결합에 대한 언급은 우선적 결합을 의미한다. "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 특이적 분자를 인식하고 그에 결합하지만, 샘플 중의 다른 분자는 실질적으로 인식하지 않거나 결합하지 않는 화합물, 예를 들어 단백질, 핵산, 항체 등을 포함한다. 예를 들어, 샘플 중의 동족 리간드 또는 결합 파트너 (예를 들어, CD2에 결합하는 LFA3 폴리펩티드 분자)를 인식하고 그에 결합하지만, 샘플 중의 다른 분자는 실질적으로 인식하지 않거나 결합하지 않는 분자는 그러한 동족 리간드 또는 결합 파트너에 특이적으로 결합한다. 따라서, 지정된 검정 조건 하에서, 특이적 결합 모이어티는 특정한 표적 분자에 우선적으로 결합하고, 시험 샘플에 존재하는 다른 성분에 유의한 양으로 결합하지 않는다.

[0547] 다양한 검정 포맷을 사용하여 관심 표적에 특이적으로 결합하는 분자를 선택할 수 있다. 항원 또는 수용체와 특이적으로 반응하는 분자, 또는 동족 리간드 또는 결합 파트너와 특이적으로 결합하는 그의 리간드 결합 부분을 확인하는데 사용될 수 있는 많은 검정 중에서 특히, 예를 들어 고체 상 ELISA 면역검정, 면역침전, 비아코어 (Biacore)<sup>TM</sup> (지이 헬스케어(GE Healthcare), 뉴저지주 피스카타웨이), 키넥사(KinExA), 형광-활성화 세포 분류 (FACS), 옥테트(Octet)<sup>TM</sup> (포르테바이오, 인크.(ForteBio, Inc.)), 캘리포니아주 멘로 파크) 및 웨스턴 블롯 분석이 있다. 전형적으로, 특이적 또는 선택적 반응은 배경 신호 또는 잡음의 적어도 2배, 예를 들어 배경의 10배 초과, 예를 들어 배경의 50배 초과, 예를 들어 배경의 100배 초과, 예를 들어 배경의 500배 초과, 예를 들어 배경의 1000배 초과, 예를 들어 배경의 10,000배 초과일 것이다.

[0548] 용어 "결합 친화도"는 2개의 분자, 예를 들어 폴리펩티드 분자와 그의 표적 사이의 비-공유 상호작용의 강도의 척도로서 본원에 사용된다. 용어 "결합 친화도"는 1가 상호작용 (내인성 활성)을 기재하는데 사용된다.

- [0549] 추가적으로, CD2-발현 세포에 대한 LFA3 폴리펩티드 분자의 결합 친화도를 결정하기 위해, 세포 결합 실험을 수행하여 결합 친화도를 결정할 수 있다. 표적을 발현하는 세포에 대한 폴리펩티드 분자 결합의 결합 친화도는 표적 결합 집단의 기하 평균 형광 강도 (gMFI)를 유동 세포측정법에 의해 정량화한 평형 결합 적정 곡선의 EC<sub>50</sub>으로서 계산될 수 있다.
- [0550] 1가 상호작용을 통한 2개의 분자, 예를 들어 폴리펩티드 분자와 그의 표적 사이의 결합 친화도는 해리 상수 (K<sub>D</sub>)의 결정에 의해 정량화될 수 있다. 다음으로, K<sub>D</sub>는, 예를 들어 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 방법 (비아코어)을 사용하여 복합체 형성 및 해리의 동역학을 측정함으로써 결정될 수 있다. 1가 복합체의 회합 및 해리에 상응하는 속도 상수는 각각 회합 속도 상수 k<sub>a</sub> (또는 k<sub>on</sub>) 및 해리 속도 상수 k<sub>d</sub> (또는 k<sub>off</sub>)로 지칭된다. K<sub>D</sub>는 방정식  $K_D = k_d / k_a$ 를 통해 k<sub>a</sub> 및 k<sub>d</sub>와 관련된다. 해리 상수의 값은 널리 공지된 방법에 의해 직접적으로 결정될 수 있고, 예를 들어 문헌 [Caceci et al. (1984, Byte 9: 340-362)]에 제시된 바와 같은 방법에 의해 심지어 복합 혼합물에 대해서도 컴퓨터 계산될 수 있다. 예를 들어, K<sub>D</sub>는 문헌 [Wong & Lohman (1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5428-5432)]에 개시된 바와 같은 이중-필터 니트로셀룰로스 필터 결합 검정을 사용하여 확립될 수 있다. 표적 항원에 대한 리간드의 결합 능력을 평가하기 위한 다른 표준 검정이 관련 기술분야에 공지되어 있고, 이는 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯, RIA 및 유동 세포측정 분석, 및 본원의 다른 곳에 예시된 다른 검정을 포함한다. 분자의 결합 동역학 및 결합 친화도는 또한 관련 기술분야에 공지된 표준 검정, 예컨대 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해, 예를 들어 비아코어™ 시스템 또는 키넥사에 의해 평가될 수 있다.
- [0551] 표적에 대한 분자의 결합을, 표적의 또 다른 리간드, 예컨대 항체 또는 표적에 달리 결합하는 가용성 수용체에 의한 표적의 결합과 비교하는 경쟁적 결합 검정이 수행될 수 있다. 50% 억제가 발생하는 농도는 K<sub>i</sub>로서 공지되어 있다. 이상적인 조건 하에, K<sub>i</sub>는 K<sub>D</sub>와 등가이다. K<sub>i</sub> 값은 결코 K<sub>D</sub>보다 낮지 않을 것이므로, K<sub>D</sub>에 대한 상한치를 제공하기 위해 K<sub>i</sub>의 측정을 편리하게 대체시킬 수 있다.
- [0552] 상이한 분자 상호작용과 연관된 결합 친화도의 상기 정의에 따라, 예를 들어 주어진 표적에 대한 상이한 분자의 결합 친화도의 비교는 개별 분자/표적 복합체에 대한 K<sub>D</sub> 값의 비교에 의해 비교될 수 있다. 결합 파트너에 대한 K<sub>D</sub> 값은 관련 기술분야에 널리 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. K<sub>D</sub>를 결정하기 위한 한 가지 방법은, 전형적으로 바이오센서 시스템, 예컨대 비아코어® 시스템을 사용하는 표면 플라즈몬 공명을 사용하는 것이다.
- [0553] 유사하게, 상호작용의 특이성은 관심 상호작용, 예를 들어 분자와 표적 사이의 특이적 상호작용에 대한 K<sub>D</sub> 값을 결정하고, 이를 비관심 상호작용, 예를 들어 표적에 결합하지 않는 것으로 공지된 대조군 분자의 상호작용의 K<sub>D</sub> 값과 비교함으로써 평가될 수 있다.
- [0554] 앞서 본원의 다른 곳에 언급된 바와 같이, 특이적 결합은 표적이 아닌 대조군 분자에 대한 분자의 결합을 참조하여 평가될 수 있다. 이러한 비교는 표적에 결합할 수 있는 분자의 능력을 대조군 분자에 결합할 수 있는 항체의 능력과 비교함으로써 이루어질 수 있다. 이러한 비교는 K<sub>D</sub> 또는 K<sub>i</sub>의 평가에서 상기 기재된 바와 같이 이루어질 수 있다. 이러한 비교에 사용된 대조군 분자는 표적이 아닌 임의의 분자일 수 있다. 바람직하게는, 대조군 분자는 표적과 동일하지 않다. 바람직하게는 대조군 분자는 표적의 단편이 아니다. 특이적 결합을 결정하기 위해 사용된 대조군 분자는 표적에 대한 구조 또는 기능에 있어서 비관련될 수 있다. 예를 들어, 대조군 분자는 비관련 물질 또는 환경에 수반되는 물질일 수 있다. 특이적 결합을 결정하기 위해 사용된 대조군 분자는 표적 분자, 즉 CD2와 동일한 생체내 경로에 관여하는 분자일 수 있다. 본 발명의 분자가 이러한 또 다른 분자를 초과하는 CD2에 대한 특이성을 반드시 갖게 함으로써, 원치않는 생체내 교차 반응성을 피할 수 있다.
- [0555] 본 발명의 분자는 표적 분자와 관련된 일부 분자에 결합할 수 있는 능력을 보유할 수 있다.
- [0556] 대안적으로, 본 발명의 항체는 특정한 표적 분자에 대한 특이성을 가질 수 있다. 예를 들어, 이는 본원에 기재된 바와 같은 하나의 표적 분자에 결합할 수 있지만, 본원에 기재된 것과 상이한 표적 분자에는 결합할 수 없거나 또는 유의하게 감소된 친화도로 결합할 수 있다. 예를 들어, 성숙 인간 CD2를 표적으로서 사용할 수 있지만, 그러한 표적에 결합하는 분자는, 예를 들어 다른 종으로부터의 다른 CD2 단백질, 예컨대 다른 포유동물 CD2에는 결합할 수 없거나 또는 더 낮은 친화도로 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 분자는 인간 및 시노물 구스 CD2 둘 다에 결합한다.
- [0557] "융합" 단백질 또는 "융합" 분자는 제1 폴리펩티드가 제2 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된, 예를 들어 직접적

으로 또는 간접적으로 연결된 단백질이다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자는 제2 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 LFA3 도메인을 포함하는 융합 단백질이다.

- [0558] "Fc 융합" 단백질 또는 "Fc 융합" 분자는 1개 이상의 폴리펩티드가 Fc 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된, 예를 들어 직접적으로 또는 간접적으로 연결된 단백질이다. Fc 융합체는 이뮤노글로불린의 Fc 영역과 융합 파트너를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 LFA3 폴리펩티드 분자는 Fc 폴리펩티드에 작동가능하게 연결된 LFA3 도메인을 포함하는 Fc 융합 단백질이다.
- [0559] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. "변이체 Fc 영역"은 적어도 1개의 아미노산 변형에 의해 천연 서열 Fc 영역의 아미노산 서열과 상이하지만 천연 서열 Fc 영역의 적어도 1개의 이펙터 기능을 보유하고 있는 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 치환, 예를 들어 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환을 갖고, 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역 내에 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본원의 변이체 Fc 영역은 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 및 /또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 그와 적어도 약 90% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 그와 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 서열 동일성을 보유할 것이다.
- [0560] 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 항체의 "불변 영역"은 항체 경쇄의 불변 영역 또는 항체 중쇄의 불변 영역 단독 또는 조합을 지칭한다.
- [0561] 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 용어 "IgG Fc 영역", "Fc 영역", "Fc 도메인" 및 "Fc"는 IgG 분자의 파과인 소화에 의해 수득되는 결정화가능한 단편과 상관된 IgG 분자의 부분을 지칭한다. 본원에 사용된 용어는 제1 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인을 제외한 항체의 불변 영역에 관한 것이고, 추가로 그 영역의 부분에 관한 것이다. 따라서, Fc는 IgA, IgD 및 IgG의 마지막 2개의 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인, 및 IgE 및 IgM의 마지막 3개의 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인, 및 이들 도메인의 N-말단의 가요성 힌지, 또는 그의 부분을 지칭한다. IgA 및 IgM의 경우, Fc는 J 쇄를 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc는 이뮤노글로불린 도메인 C $\gamma$ 2 및 C $\gamma$ 3 (C 감마 2 및 C 감마 3) 및 C $\gamma$ 1 (C 감마 1)과 C $\gamma$ 2 (C 감마 2) 사이의 힌지를 포함한다. Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상적으로 C226 또는 P230에서 그의 카르복실-말단까지의 잔기를 포함하는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 문헌 [Kabat et al., 1991]에 기재된 바와 같은 문헌 [Edelman et al., 1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63(1):78-85]의 EU 인텍스에 따른다. 전형적으로, Fc 도메인은 인간 IgG1 불변 도메인의 아미노산 잔기 약 236에서 약 447을 포함한다. 예시적인 인간 야생형 IgG1 Fc 도메인 아미노산 서열은 서열식별번호: 31에 제시된다. Fc 폴리펩티드는 단리된 이 영역을 지칭할 수 있거나, 또는 항체 또는 그의 항원-결합 부분, 또는 Fc 융합 단백질과 관련하여 이 영역을 지칭할 수 있다.
- [0562] 중쇄 불변 도메인은 Fc 영역을 포함하고, 추가로 IgG 중쇄의 CH1 도메인 및 힌지만만 아니라 CH2 및 CH3 (및 임의로, IgA 및 IgE의 CH4) 도메인을 포함한다.
- [0563] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 적어도 1개의 이펙터 기능을 보유한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성; 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향-조절 등을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인과 조합될 것을 요구하고, 이러한 이펙터 기능을 평가하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정을 사용하여 평가될 수 있다.
- [0564] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역은 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역 (비-A 및 A 동종이형); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역뿐만 아니라 그의 자연 발생 변이체를 포함한다.
- [0565] "변이체 Fc 영역"은 적어도 1개의 아미노산 변형에 의해 천연 서열 Fc 영역의 아미노산 서열과 상이한 아미노산 서열을 포함한다.
- [0566] "Fc 수용체" 및 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재한다. 일부 실시양태에서, Fc  $\gamma$ R은 천연 인간 FcR이다. 일부 실시양태에서, FcR은 IgG 항체에 결합하는 수용체 (감마 수용체)이고, Fc  $\gamma$ RI, Fc  $\gamma$ RRI 및 Fc  $\gamma$ RRII 하위부류의 수용체를 포함하며, 이들은 이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한다. Fc  $\gamma$ RRII 수용체는 Fc  $\gamma$ RRIIA ("활성화 수용체") 및 Fc  $\gamma$ RRIIB ("억제 수용체")를 포함하며, 이는 주로 그의 세포질 도메인에서 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc  $\gamma$ RRIIA는 그의 세포

질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프 (ITAM)를 함유한다. 억제 수용체 Fc $\gamma$ RIIB는 그의 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프 (ITIM)를 함유한다 (예를 들어, 문헌 [Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)] 참조). FcR은, 예를 들어 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al, Immunomethods 4:25-34 (1994); 및 de Haas et al, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995)]에 검토되어 있다. 향후 확인될 것을 포함한 다른 FcR이 본원의 용어 "FcR"에 포괄된다.

[0567] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 또한 모체 IgG의 태아로의 전달 (Guyer et al, J. Immunol. 117:587 (1976) 및 Kim et al, J. Immunol. 24:249 (1994)) 및 이뮤노글로불린의 항상성 조절을 담당하는 신생아 수용체 FcRn을 포함한다. FcRn에의 결합의 측정 방법은 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Ghetie and Ward., Immunol. Today 18(12):592-598 (1997); Ghetie et al, Nature Biotechnology, 15(7):637- 640 (1997); Hinton et al, J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004); WO 2004/92219 (Hinton et al.)] 참조).

[0568] "이펙터 기능"은 항체 이소형에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에서 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성 (CDC); Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC); 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어 B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.

[0569] "인간 이펙터 세포"는 1개 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구이다. 특정 실시양태에서, 세포는 적어도 Fc $\gamma$ RIII를 발현하고 ADCC 이펙터 기능(들)을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC), 자연 킬러 (NK) 세포, 단핵구, 대식세포, 세포독성 T 세포 및 호중구를 포함한다. 이펙터 세포는 천연 공급원, 예를 들어 혈액으로부터 분리될 수 있다.

[0570] "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 특정 세포독성 세포 (예를 들어 NK 세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체 (FcR) 상에 결합된 분비된 Ig가, 이들 세포독성 이펙터 세포가 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합한 후 세포독소로 표적 세포를 사멸시킬 수 있도록 하는 세포독성의 형태를 지칭한다. ADCC를 매개하는 1차 세포인 NK 세포는 Fc $\gamma$ RIII만을 발현하는 반면에, 단핵구는 Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RII 및 Fc $\gamma$ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)]의 464페이지의 표 3에 요약되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해서, 미국 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337 또는 미국 특허 번호 6,737,056 (Presta)에 기재된 바와 같은 시험관내 ADCC 검정을 수행할 수 있다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 PBMC 및 NK 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998)]에 기재된 바와 같은 동물 모델에서 평가할 수 있다. 변경된 Fc 영역 아미노산 서열을 갖는 추가의 항체 및 증가 또는 감소된 ADCC 활성은, 예를 들어 미국 특허 번호 7,923,538 및 미국 특허 번호 7,994,290에 기재되어 있다.

[0571] "증진된 ADCC 활성"을 갖는 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 참조 분자와 비교하여 시험관내 또는 생체내에서 ADCC를 매개하는데 더 효과적인 분자를 지칭하며, 여기서 분자 및 참조 분자는 적어도 1개의 구조적 측면에서 상이하고, 검정에 사용된 이러한 분자 및 참조 분자의 양은 본질적으로 동일하다. 일부 실시양태에서, ADCC 활성은 본원에 개시된 바와 같은 시험관내 ADCC 검정을 사용하여 결정될 것이지만, 예를 들어 동물 모델 등에서의 ADCC 활성을 결정하기 위한 다른 검정 또는 방법이 고려된다. 일부 실시양태에서, 증진된 ADCC 활성을 갖는 분자는 Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 증진된 ADCC 활성을 갖는 분자는 Fc 감마 RIIIA (V158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 증진된 ADCC 활성을 갖는 분자는 Fc 감마 RIIIA (F158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다.

[0572] "변경된" FcR 결합 친화도 또는 ADCC 활성을 갖는 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 참조 분자와 비교하여 증진되거나 감소된 FcR 결합 활성 및/또는 ADCC 활성을 갖는 것이며, 여기서 분자 및 참조 분자는 적어도 1개의 구조적 측면에서 상이하다. FcR에 대한 "증가된 결합을 나타내는" 분자는 참조 분자보다 더 우수한 친화도로 적어도 1개의 FcR에 결합한다. FcR에 대한 "감소된 결합을 나타내는" 분자는 참조 분자보다 더 낮은 친화도로 적어도 1개의 FcR에 결합한다. FcR에 대한 감소된 결합을 나타내는 이러한 분자는 FcR에 대한 인지가능한 결합을 거의 또는 전혀 보유하지 않을 수 있고, 예를 들어 천연 서열 IgG Fc 영역과 비교하여 FcR에 대한 0-20 퍼센트 결합을 보유할 수 있다.

[0573] "Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도"는 참조 분자보다 Fc 감마 RIIIA (일부 경우에, CD 16a로도 지칭됨)에 대해 더 큰 친화도를 갖는 분자 (예를 들어, Fc 융합체)를 지칭하며, 여기서 분자 및 참조 분자는 적어도 1개의 구조적 측면에서 상이하다. Fc 감마 RIIIA에 대한 친화도를 결정하는 임의의 적합한 방법이 사용될 수 있다.

일부 실시양태에서, Fc 감마 RIIIA에 대한 친화도는 본원에 기재된 방법에 의해 결정된다. 일부 실시양태에서, Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도를 갖는 분자는 증진된 ADCC 활성을 갖는다. 일부 실시양태에서, Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도를 갖는 분자는 Fc 감마 RIIIA(V158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도를 갖는 분자는 Fc 감마 RIIIA(F158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다.

[0574] 6-데옥시-L-갈락토스로도 지칭되는 L-푸코스는 동물에서 일부 N- 및 O-연결된 글리칸 및 당지질의 성분인 모노사카라이드이다. 문헌 [Becker and Lowe, *Glycobiology* 13:41R-51R (2003)]을 참조한다. 푸코스는 전형적으로 혈액형 항원, 셀렉틴 및 항체에 부착된 글리칸을 포함한, 글리칸에 대한 말단 변형으로서 부가된다. 푸코스는 특정 푸코실트랜스퍼라제에 의해  $\alpha(1,2)$ -,  $\alpha(1,3)$ -,  $\alpha(1,4)$ - 및  $\alpha(1,6)$ -연결을 통해 글리칸에 부착될 수 있다.  $\alpha(1,2)$ -푸코스 연결은 전형적으로 H-혈액형 항원과 연관된다.  $\alpha(1,3)$ - 및  $\alpha(1,4)$ -푸코스 연결은 루이스X 항원의 변형과 연관된다.  $\alpha(1,6)$ -푸코스 연결은 항체 상의 것과 같은 N-연결된 GlcNAc 분자와 연관된다.

[0575] 본 발명의 탄수화물 모이어티는 올리고사카라이드에 대한 기재의 경우에 통상적으로 사용되는 명명법을 참조하여 기재될 것이다. 이러한 명명법을 사용하는 탄수화물 화학의 검토는 문헌 [Hubbard and Ivatt (1981) *Ann. Rev. Biochem.* 50:555-583]에서 확인된다. 이러한 명명법은, 예를 들어 만노스를 나타내는 Man, 2-N-아세틸글루코사민을 나타내는 GlcNAc; 갈락토스를 나타내는 Gal; 푸코스에 대한 Fuc; 및 글루코스를 나타내는 Glc를 포함한다. 시알산은 축약 표기법으로 5-글리콜릴뉴라민산의 경우 NeuNgc 및 5-N-아세틸뉴라민산의 경우 NeuNAc로 기재된다 (IUB-IUPAC Joint Commission on Biochemical Nomenclature, 1982, *J. Biol. Chem.* 257: 3347-3351; (1982) *J. Biol. Chem.* 257: 3352).

[0576] 본 발명의 탄수화물 구조는 단백질 상에서 발생하며, N-연결된 올리고사카라이드로 표현된다. "N-연결된 글리코실화"는 탄수화물 모이어티가 GlcNAc를 통해 폴리펩티드 쇠 내의 아스파라긴 잔기에 부착된 것을 지칭한다. N-연결된 탄수화물은 모두 공통의 Man 1-6(Man1-3)Man $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ 1-4GlcNAc $\beta$ -R 코어 구조를 함유한다. 따라서, 기재된 코어 구조에서, R은 생산된 당단백질의 아스파라긴 잔기를 나타낸다. 생산된 단백질의 서열은 아스파라긴-X-세린, 아스파라긴-X-트레오닌, 및 아스파라긴-X-시스테인을 함유할 것이고, 여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다 (Asn-Xaa-Ser/Thr). 이와 대조적으로, "O-연결된" 탄수화물은 GalNAc가 트레오닌 또는 세린의 히드록실 기에 부착되어 있지만 컨센서스 서열은 요구되지 않는 공통의 코어 구조를 특징으로 한다. N-연결된 탄수화물에서 가장 중요한 것은 "복잡한" N-연결된 탄수화물, 예컨대 본원에 기재된 "이중-안테나" 구조이다.

[0577] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 당단백질 이뮤노글로불린 G (IgG)가, 통상적으로 각각 G0, G1 및 G2로 공지되어 있는, 0, 1 또는 2개의 갈락토스 잔기를 함유하는 3가지 유형의 복잡한 이중안테나 구조와 연관된다는 것을 인식할 것이다 (Wormland et al., 1997, *Biochemistry* 36:1370-1380). IgG 부류의 인간 항체 분자와 관련하여, 각각은 Fc 영역의 CH2 도메인 내부 면의  $\beta$ -4 벤드의 Asn 297의 아미드 측쇄에 부착된 N-연결된 올리고사카라이드를 갖는다 (Beale and Feinstein, 1976, *Q. Rev. Biophys.* 9:253-259; Jefferis et al., 1995, *Immunol. Letts.* 44:111-117). IgG CH2 도메인의 Asn 297에 부착된 올리고사카라이드 모이어티는 확인된 헥사사카라이드 코어 구조 및 가변 외부 당 잔기를 갖는 복잡한 이중안테나 유형이다 (문헌 [Jefferis et al., 1997, supra; Wyss and Wagner, 1996, *Current Opinions in Biotech.* 7:409-416] 참조). 코어 구조 (GlcNAc2Man3GlcNAc)는 이중안테나 올리고사카라이드에 전형적이며, 이는 도 1에 개략적으로 나타나 있다.

[0578] 각각의 코어 구조가 이등분된 N-아세틸글루코사민, 코어 푸코스, 및 갈락토스 또는 시알산 외부 사카라이드 중 어느 하나를 가질 수 있으므로, Asn 297 부위를 점유할 수 있는 구조적으로 독특한 올리고사카라이드 총 36가지가 존재한다 (Jefferis and Lund, 상기 문헌). 또한, 상이한 올리고사카라이드 쇠가 2개의 쇠 Fc 도메인 내의 어느 하나의 Asn 297 잔기에 부착되므로 특정한 CH2 도메인 내 Asn 297에서의 글리코실화는 비대칭일 수 있는 것으로 인식될 것이다. 예를 들어, 단일 항체-분비 세포에서 합성된 중쇄는 그의 아미노산 서열이 균일할 수 있지만, 이는 일반적으로 차등 글리코실화되어 다수의 구조적으로 독특한 Ig 당형태를 생성한다.

[0579] IgG의 CH2 도메인에서 발견되는, "당형태"로도 지칭되는 복잡한 올리고사카라이드 구조의 주요 유형은 국제 특허 공개 번호 WO 99/22764, 7 페이지에 도시되어 있다.

[0580] 본 발명에 따르면 G0은 말단 시알산 (NeuAc) 또는 Gal이 존재하지 않는 이중안테나 구조를 지칭하고, G1은 1개의 Gal을 가지며 NeuAc이 없는 이중안테나 구조를 지칭하고, G2는 2개의 말단 Gal을 가지며 NeuAc이 없는 이중안테나 구조를 지칭한다. 예를 들어, G0, G1, G-1 및 G2의 예시적인 구조를 도시하는 도 2를 참조한다.

- [0581] "비-푸코실화" 분자 (예를 들어, Fc 융합체) 또는 "푸코스가 결여된" 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 그의 불변 영역 글리코실화에서 푸코스가 결여된 IgG1 또는 IgG3 이소형 분자 (예를 들어, Fc 융합체)를 지칭한다. 인간 IgG1 또는 IgG3의 글리코실화는 Asn297에서 최대 2개의 Gal 잔기로 종결되는 코어 푸코실화 이중안테나의 복잡한 올리고사카라이드 글리코실화로서 일어난다. 일부 실시양태에서, 비-푸코실화 항체는 Asn297에서 푸코스가 결여되어 있다. 이들 구조는 말단 Gal 잔기의 양에 따라 G0, G1 (1,6 또는 1,3) 또는 G2 글리칸 잔기로서 지정된다. 예를 들어, 문헌 [Raju, T. S., *BioProcess Int.* 1: 44-53 (2003)]을 참조한다. 항체 Fc의 CHO 유형 글리코실화는, 예를 들어 문헌 [Routier, F. FL, *Glycoconjugate J.* 14: 201-207 (1997)]에 기재되어 있다.
- [0582] 일부 실시양태에서, 본원에서 상호교환가능하게 사용된 "푸코실" 또는 "비-푸코실화" 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 코어 푸코스가 결여되도록 당조작된 분자 (예를 들어, Fc 융합체)를 지칭한다. 글리칸 모이어티 내에 감소된 푸코스 함량을 갖는 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 Fc  $\gamma$ RIIIa (CD16)에 대한 증가된 친화도를 갖고, 그 결과, 증진된 활성-의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 활성을 보유한다. 비-푸코실 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 푸코스 부가를 담당하는 유전자의 대립유전자 둘 다가 결여되어 있는 ( $\alpha$ 1,6-푸코실트랜스퍼라제) 포텔리젠트(Potelligent)<sup>®</sup> CHOK1SV 세포주 (론자 바이올로지스(Lonza Biologics))를 사용하여 생산될 수 있다. 또한, 비-푸코실 또는 감소된 푸코스 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 다양한 방식으로 올리고사카라이드 생합성 활성을 변형시킴으로써 생성될 수 있다. 예를 들어, 생산 세포주의 골지체에서의 N-아세틸글루코사민-트랜스퍼라제 III (GnTIII)의 과다발현은 분자의 Fc 불변 영역과 회합된 이등분된 올리고사카라이드 구조를 생성하고 푸코실화를 억제한다. 이러한 발현 시스템에서, GnTIII 발현 수준은 비-푸코실화 IgG1 당형태의 생성 및 그 결과 증진된 ADCC 활성과 상관관계가 있다. 푸코실화는 또한 당 유사체, 예컨대 비제한적으로 WO 2012/019165에 기재된 바와 같은 푸코스 유사체의 사용에 의해 세포 배양물에서 감소될 수 있다. 따라서, 비-푸코실화 또는 감소된 푸코스 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 관련 기술분야에 널리 공지된 매우 다양한 방법을 사용하여 생산될 수 있다.
- [0583] 일부 실시양태에서, 비-푸코실화 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 Fc 감마 RIIIA에 대한 증진된 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 비-푸코실화 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 Fc 감마 RIIIA(V158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다. 일부 실시양태에서, 비-푸코실화 분자 (예를 들어, Fc 융합체)는 Fc 감마 RIIIA(F158)에 대한 증진된 친화도를 갖는다.
- [0584] "당형태"는 다양한 탄수화물 단위의 연결을 포함하는 복잡한 올리고사카라이드 구조를 지칭한다. 이러한 구조는, 예를 들어 문헌 [Essentials of Glycobiology Varki et al., eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1999)]에 기재되어 있으며, 이는 또한 표준 당생물학 명명법에 대한 개관을 제공한다. 이러한 당형태는 G2, G1, G0, G-1 및 G-2를 포함하나 이에 제한되지는 않는다 (예를 들어, 국제 특허 공개 번호 WO 99/22764 참조).
- [0585] "글리코실화 패턴"은 단백질에 공유 부착된 탄수화물 단위의 패턴 (예를 들어, 당형태), 뿐만 아니라 이러한 당형태(들)가 단백질, 보다 구체적으로는 이뮤노글로불린 단백질의 펩티드 백본에 공유 부착되는 부위(들)에 공유 부착된 탄수화물 단위의 패턴 (예를 들어, 당형태)으로 정의된다.
- [0586] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재 하의 표적 세포의 용해를 지칭한다. 전형적 보체 경로의 활성화는 보체계의 제1 성분 (C1q)이 동족 항원에 결합된 (적절한 하위부류의) 항체에 결합함으로써 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202: 163 (1996)]에 기재된 바와 같은 CDC 검정이 수행될 수 있다. Fc 영역 아미노산 서열이 변경되고 C1q 결합 능력이 증가되거나 감소된 항체는, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551 B1, 미국 특허 번호 7,923,538, 미국 특허 번호 7,994,290 및 WO 1999/51642에 기재되어 있다. 또한, 예를 들어 문헌 [Idusogie et al., J]을 참조한다.
- [0587] 본원에 사용된 용어 "야생형 아미노산" 및 "야생형 서열"은 특정 집단 (예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 세포 등) 내에서 자연 발생하는 아미노 또는 핵산의 서열을 지칭한다.
- [0588] 본원에서 상호교환가능하게 사용된 "림프구 기능-연관 항원 3 또는 "LFA3" (관련 기술분야에서 "CD58"로도 지칭됨)은 이뮤노글로불린 슈퍼패밀리의 구성원이다. 용어 LFA3은 특히 인간, 시노몰구스 원숭이, 래트, 토끼 및 마우스를 포함한다, LFA3 상동체 및 오르토로그를 포함한다. 본원에 사용된 "LFA3"은 포유동물 LFA3, 예컨대 인간, 래트 또는 마우스, 뿐만 아니라 비-인간 영장류, 소, 양 또는 돼지 LFA3을 지칭한다. LFA3의 비제한적 예는 인간 LFA3이다 (예를 들어, 유니프롯(UniProt)KB 수탁 번호 P19256, 서열식별번호: 2 참조). 용어 "LFA3"은 또한 이러한 LFA3 분자의 단편, 변이체, 이소형 및 다른 상동체를 포괄한다. 변이체 LFA3 분자는 일반적인

로 자연 발생 LFA3과 동일한 유형의 활성화, 예컨대 CD2에 결합하는 능력을 갖는 것을 특징으로 할 것이다.

[0589] "LFA3 도메인"은 LFA3의 단편 또는 그의 변이체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170 또는 180개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 LFA3의 제1 세포의 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 야생형 LFA3 서열에 비해 6, 10, 15, 20 또는 30개 이하의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)를 포함한다.

[0590] 관련 기술분야에서 "적혈구 수용체", "LFA-3 수용체", "로제트 수용체" 또는 "T-세포 표면 항원 T11/Leu-5"로도 지칭되는 "CD2"는 T 세포 및 NK 세포와 같은 세포 상에서 발현되는 분자이다. 용어 CD2는 특히 인간, 시노몰구스 원숭이, 래트, 토끼 및 마우스를 포함한 CD2 상동체 및 오르토로그를 포함한다. 본원에 사용된 "CD2"는 포유동물 CD2, 예컨대 인간, 래트 또는 마우스, 뿐만 아니라 비-인간 영장류, 소, 양 또는 돼지 CD2를 지칭한다. CD2의 비제한적 예는 인간 CD2이다 (예를 들어, 유니프룻KB 수탁 번호 P06729, 서열식별번호: 121 참조). 용어 "CD2"는 또한 이러한 CD2 분자의 단편, 변이체, 이소형 및 다른 상동체를 포괄한다. 변이체 CD2 분자는 일반적으로 자연 발생 CD2와 동일한 유형의 활성을 갖는 것을 특징으로 할 것이다.

KEITNALETW GALGQDINLDIPSFQMSDDIDDIKWEKTS DKKKIAQFRKEKET FKEKD  
 TYKLFKNGTLKIKHLKTDDQDIYKVSIDYDTKGKNVLEKIFDLKIQERVSKPKISWTCI  
 NNTLTCEVMNGTDPENLNYQDGGKHLKLSQRVITHKWTTSLSAKFCTAGNKVSKES  
 SVEPVSCPEKGLDIYLIIGICGGGSLLMV FVALLVFYITKRKKQRSRNDEELETRAHR  
 VATEERGRKPHQIPASTPQN PATSQHP PPPPGHRSQAPSHRPPPPGHRVQHQPQKRPP  
 APSGTQVHQKGPPLPRVQPKPPHGA AENSLSPSSN (SEQ ID NO: 121).

[0591] 본원의 다른 곳에 요약된 바와 같이, 폴리펩티드 분자의 특정 위치는 변경될 수 있다. 본원에 사용된 "위치"는 단백질의 서열 내의 자리를 의미한다. 위치는 순차적으로 또는 확립된 포맷에 따라 넘버링될 수 있고, 예를 들어 EU 인덱스 및 카바트 인덱스를 사용하여 항체의 아미노산 잔기를 넘버링할 수 있다.

[0593] 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 본원에서 상호교환가능하게 사용된 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드 쇄를 지칭하며, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기, 및/또는 그의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 쇄 내로 도입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 메틸화 뉴클레오티드 및 그의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우, 뉴클레오티드 구조에 대한 변형은 쇄의 조립 전 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오티드의 서열에는 비-뉴클레오티드 성분이 개재될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 중합 후에, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 추가로 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은, 예를 들어 "캡", 자연 발생 뉴클레오티드 중 1개 이상의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드간 변형, 예컨대, 예를 들어 비하전된 연결 (예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카르바메이트 등)을 갖는 것 및 하전된 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)을 갖는 것, 펜던트 모이어티, 예컨대, 예를 들어 단백질 (예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, 폴리-L-리신 등)을 함유하는 것, 삽입체 (예를 들어, 아크리딘, 포소랄렌 등)를 갖는 것, 킬레이트화제 (예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등)를 함유하는 것, 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 연결 (예를 들어, 알파 아노머 핵산 등)을 갖는 것, 뿐만 아니라 비변형된 형태의 폴리뉴클레오티드(들)를 포함한다. 또한, 당에 통상적으로 존재하는 임의의 히드록실 기는, 예를 들어 포스포네이트 기, 포스페이트 기에 의해 대체될 수 있거나, 표준 보호기에 의해 보호될 수 있거나, 추가의 뉴클레오티드에 대한 추가의 연결을 만들기 위해 활성화될 수 있거나, 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화될 수 있거나, 아민 또는 1 내지 20개 탄소 원자의 유기 캡핑 기 모이어티로 치환될 수 있다. 다른 히드록실이 또한 표준 보호기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한 관련 기술분야에 일반적으로 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사 형태, 예를 들어 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카르보시클릭 당 유사체, 알파- 또는 베타-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 크실로스 또는 릭소스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헥톨로스, 비-시클릭 유사체 및 무염기성 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 메틸 리보시드를 함유할 수 있다. 1개 이상의 포스포디에스테르 연결은 대안적 연결기에 의해 대체될 수 있다. 이들 대안적 연결 기는 포스페이트가 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR<sub>2</sub> ("아미레이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH<sub>2</sub> ("포름아세탈")에 의해 대체된 실시양태를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 여기서 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H, 또는 임의로 에테르 (-O-) 연결을 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬 (1-20 C), 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알딜이다. 폴리뉴클레오티드 내의 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 상기 기재는 RNA 및 DNA를 포함한 본

원에 지칭된 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

- [0594] 본원에 사용된 "백터"는 숙주 세포에 1개 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달할 수 있고, 바람직하게는 이를 발현시킬 수 있는 구축물을 의미한다. 백터의 예는 바이러스 백터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 백터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 백터, 양이온성 축합제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 및 생산자 세포와 같은 특정 진핵 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0595] "숙주 세포"는 폴리뉴클레오티드 삽입물의 혼입을 위한 백터(들)에 대해 수용자일 수 있거나 수용자인 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함하고, 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래 모 세포와 (형태학 또는 게놈 DNA 상보성에서) 반드시 완전하게 동일하지는 않을 수 있다. 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 의해 생체내 형질감염되고/거나 형질전환된 세포를 포함한다.
- [0596] 숙주 세포는 원핵 세포 또는 진핵 세포일 수 있다. 예시적인 진핵 세포는 포유동물 세포, 예컨대 영장류 또는 비-영장류 동물 세포; 진균 세포, 예컨대 효모; 식물 세포; 및 곤충 세포를 포함한다.
- [0597] 세포 배양될 수 있고 단백질 또는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 임의의 숙주 세포가 본 발명에 따라 이용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 숙주 세포는 포유동물 숙주 세포이다. 발현을 위한 숙주로서 입수가 가능한 포유동물 세포주는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection) (ATCC)으로부터 입수가 가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 비제한적 예시적인 포유동물 세포는 NS0 세포, HEK 293 및 차이니스 햄스터 난소 (CHO) 세포, 및 그의 유도체, 예컨대 293-6E 및 CHO DG44 세포, CHO DXB11, 및 포털리젠트® CHOK1SV 세포 (바이오와(BioWa)/론자, 뉴저지주 앨런테일)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 포유동물 숙주 세포는 또한 인간 자궁경부 암종 세포 (HeLa, ATCC CCL 2), 새끼 햄스터 신장 (BHK, ATCC CCL 10) 세포, 원숭이 신장 세포 (COS), 및 인간 간세포성 암종 세포 (예를 들어, Hep G2)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명에 따라 사용될 수 있는 포유동물 세포의 다른 비제한적 예는 인간 망막모세포 (PER.C6®; 크루셀(CruCell), 네덜란드 라이덴); SV40에 의해 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651); 현탁 배양물에서의 성장을 위해 서브클로닝된 인간 배아 신장 세포주 293 (HEK 293) 또는 293 세포 (Graham et al., 1977, J. Gen Virol. 36:59); 마우스 세르톨리 세포 (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23:243-251); 원숭이 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70); 아프리카 녹색 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587); 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34); 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442); 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75); 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065); 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51); TR1 세포 (Mather et al., 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68); MRC 5 세포; FS4 세포; 인간 간세포암 세포주 (Hep G2); 및 BALB/c 마우스 골수종 세포주 (NS0/1, ECACC 번호: 85110503), NS0 세포 및 Sp2/0 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는 수많은 골수종 세포주를 포함한다.
- [0598] 추가적으로, 폴리펩티드 또는 단백질을 발현하는 임의의 수의 상업적으로 및 비상업적으로 입수가 가능한 세포주가 본 발명에 따라 이용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상이한 세포주가 상이한 영양 요건을 가질 수 있고/거나 최적 성장 및 폴리펩티드 또는 단백질 발현을 위해 상이한 배양 조건을 요구할 수 있다는 것을 인지할 것이며, 필요에 따라 조건들을 변형시킬 수 있을 것이다.
- [0599] 본 발명은 곤충 세포계, 효모 발현 시스템 또는 포유동물 세포계, 예컨대 비제한적으로 CHO 세포에서의 관심 단백질의 생산, 예컨대 발현을 위한 관련 기술분야에 공지되어 있거나 본원에 개시된 임의의 진핵 발현 시스템을 포함한다.
- [0600] 본원에 사용된 "발현 제어 서열"은 핵산의 전사를 지시하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 제어 서열은 프로모터, 예컨대 구성적 또는 유도성 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. 발현 제어 서열은 전사시키고자 하는 핵산 서열과 작동가능하게 연결된다.
- [0601] 본원에서 상호교환가능하게 사용된 용어 "리더 펩티드" 또는 "리더 서열" 또는 "리더 신호 서열"은 핵산 분자의 5' 말단 상에 및/또는 폴리펩티드의 N-말단에 또는 그 근처에 존재할 수 있는 임의의 핵산 서열 또는 이에 의해 코딩되는 아미노산 서열을 의미하며, 이는 존재할 경우, 세포로부터의 폴리펩티드의 분비를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 목적지의 소기관으로의 폴리펩티드의 수송을 매개할 수 있다. 이러한 리더 서열은, 예를 들어

ATGGGGCTGGTCTCTATCATCTCTTTCTGGTGGCCACAGCTACCGGAGTGCATAGC

(SEQ ID NO: 42), 및

ATGGTTGCTGGGAGCGACGCGGGGCGGGCCCTGGGGTCTCAGCGTGGTCTGCCT

GCTGCACTGCTTTGGTTTCATCAGCTGT (SEQ ID NO: 130)

[0602]

[0603]

를 포함하는 핵산 서열 및 이에 의해 코딩되는 아미노산 서열, 예컨대, 비제한적으로

[0604]

*mgwscitllfvatagvhs* (SEQ ID NO: 15), 및 *mvagsdagralgvlsvcllhfegfisc* (SEQ ID NO: 129)

[0605]

를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명은 폴리펩티드를 목적하는 소기관, 예를 들어 내형질 세망으로 수송하고/거나 세포로부터 분비시킬 수 있는, 관련 기술분야에 공지되어 있거나 확인될 이들 및 임의의 다른 리더 신호 (핵산 및 아미노산 서열)를 포괄한다. 일반적으로, 신호 펩티드는 성숙 폴리펩티드로부터 제거된다.

[0606]

본원에 사용된 "치료"는 유익하거나 목적하는 임상 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적상, 유익하거나 목적하는 임상 결과는 하기 중 1개 이상을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 생존율 개선 (사망률 감소), 질환에 대한 염증 반응의 감소, 조직 섬유증의 양의 감소, 질환 병변의 외관 상의 개선, 국소 부위에 대한 병리학적 병변의 제한, 질환으로부터의 손상 정도의 감소, 질환의 지속기간의 감소, 및/또는 질환과 관련된 증상의 수, 정도 또는 지속기간의 감소. 용어는 본 발명의 화합물 또는 작용제를 투여하여 질환의 증상, 합병증 또는 생화학적 징후의 발병을 방지 또는 지연시키거나, 증상을 완화시키거나, 또는 질환, 상태 또는 장애의 추가 발달을 저지 또는 억제하는 것을 포함한다. 치료는 예방적 (질환의 발병을 방지 또는 지연시키거나, 또는 그의 임상 또는 준임상 증상의 징후를 방지하기 위함)이거나, 또는 질환의 징후 이후에 증상의 치료적 억제 또는 완화될 수 있다.

[0607]

"호전시키는 것"은 LFA3 폴리펩티드 분자를 투여하지 않은 것과 비교하여 1종 이상의 증상을 약화시키는 것 또는 개선시키는 것을 의미한다. "호전"은 또한 증상 지속기간의 단축 또는 감소를 포함한다.

[0608]

본원에 사용된, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 "유효 투여량" 또는 "유효량"은 어느 하나 이상의 유익하거나 목적하는 결과에 영향을 미치기에 충분한 양이다. 보다 구체적인 측면에서, 유효량은 질환 또는 감염의 증상을 방지, 완화 또는 호전시키고/거나, 치료되는 대상체의 생존을 연장시킨다. 예방적 용도의 경우, 유익하거나 목적하는 결과는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동 증상, 그의 합병증 및 질환의 발생 동안 존재하는 중간 병리학적 표현형을 포함한 질환의 위험을 제거 또는 감소시키거나, 질환의 중증도를 경감시키거나, 질환의 발병을 지연시키는 것을 포함한다. 치료적 용도의 경우에, 유익하거나 목적하는 결과는 질환, 장애 또는 상태의 1종 이상의 증상의 감소, 질환을 치료하는데 요구되는 다른 의약의 용량의 감소, 또 다른 의약의 효과의 증진, 및/또는 환자의 질환 진행의 지연과 같은 임상 결과를 포함한다. 유효 투여량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적상, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 예방적 또는 치료적 치료를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하기에 충분한 양이다. 임상 상황에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 또 다른 약물, 화합물 또는 제약 조성물과 함께 달성될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 따라서, "유효 투여량"은 1종 이상의 치료제의 투여와 관련하여 고려될 수 있고, 단일 작용제는 1종 이상의 다른 작용제와 함께 목적하는 결과가 달성될 수 있거나 달성되는 경우 유효량으로 주어진 것으로 고려될 수 있다.

[0609]

"개체" 또는 "대상체"는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간이다. 포유동물은 또한, 가축 (예를 들어, 소, 돼지, 말, 닭 등), 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 말, 개, 고양이, 마우스 및 래트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 자가면역 질환, 장애 또는 상태, 예컨대 제1형 당뇨병 또는 건선성 관절염을 갖는다. 특정 실시양태에서, 대상체는 면역억제 요법을 필요로 한다.

[0610]

본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체" 또는 "제약상 허용되는 부형제"는 활성 성분과 조합되는 경우에 성분이 생물학적 활성을 유지하도록 하고 대상체의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 예는 임의의 표준 제약 담체, 예컨대 포스페이트 완충 염수 용액, 물, 에멀전, 예컨대 오일/물 에멀전, 및 다양한 유형의 습윤제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 에어로졸 또는 비경구 투여에 바람직한 희석제는 포스페이트 완충 염수 (PBS) 또는 생리 (0.9%) 염수이다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지된 통상적인 방법에 의해 제제화된다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 및 Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing, 2000] 참조).

- [0611] 예시적인 방법 및 물질이 본원에 기재되어 있지만, 본원에 기재된 것과 유사하거나 동일한 방법 및 물질도 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 물질, 방법 및 예시는 단지 설명을 위한 것이고, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.
- [0612] II. LFA3 변이체
- [0613] 본 발명은 LFA3 변이체, 예를 들어 인간 CD2에 결합하는 인간 LFA3 변이체에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, LFA3 변이체는 그의 안정성 및 제조성 특성을 증진시키는 1개 이상의 돌연변이를 함유한다. 일부 실시양태에서, LFA3 변이체는 CD2에 대한 그의 결합 친화도를 증가시키는 1개 이상의 돌연변이를 함유한다. 일부 실시양태에서, LFA3 변이체 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질)는 CD2-발현 세포에 대한 세포독성을 증진시키는 1개 이상의 돌연변이를 함유한다. 일부 실시양태에서, LFA3 변이체 (예를 들어, 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질)는 동종 T 세포 반응의 억제를 증진시키는 1개 이상의 돌연변이를 함유한다. 일부 실시양태에서, LFA3 변이체는 생체내 분자의 더 느린 클리어런스를 유도하는 1개 이상의 돌연변이를 함유한다. 야생형 LFA3, 및 LFA3-Fc 융합 단백질을 포함한 LFA3 변이체의 예시적인 서열이 표 2 및 표 3에 제공된다.
- [0614] 다른 실시양태에서, 조작된 Fc 폴리펩티드가 C-말단 리신 (K) 아미노산 잔기를 포함하는 경우 (예를 들어, 인간 IgG1 중쇄는 말단 리신을 포함함), 관련 기술분야의 통상의 기술자는 리신 잔기를 클립핑하여 C-말단 리신 잔기가 결여된 융합 단백질을 생성할 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 일부 실시양태에서, 조작된 Fc 폴리펩티드를 포함하는 Fc 융합 단백질은 조작되지 않았다면 존재할 말단 리신이 존재하지 않는 폴리펩티드를 포함한다.

[0615] 표 2. 야생형 LFA3 및 LFA3 변이체의 예시적인 아미노산 서열.

SEQ ID NO	설명	서열
SEQ ID NO: 1	신호 펩티드 (밀줄표시, 이탤릭체)가 존재하는 인간 LFA3 이소형 1 (P19256)	<i>mvagsdagralgvlsvvcllhcfgfisc</i> FSQQIYGVVYGNVTFHVPS NVPLKEVLWKKQKDKVAELENSEFRAFSSFKNRVYL DTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESPNITDTMKFFLYVL ESLPSPTLTCALTNGSIEVQCMPEHYNSHRGLIMYSW DCPMEQCKRNSTSIYFKMENDLPQKIQCTLSNPLFNT TSSIILTTCPSSGHSRHRVALIPIPLAVITTCIVLYMNGI LKCDRKPDRNTNSN
SEQ ID NO: 2	신호 펩티드가 부재하는 인간 LFA3 이소형 1 (P19256)	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVLESLPSPTLTCALTNGSIE VQCMPEHYNSHRGLIMYSWDPCMEQCKRNSTSIYF KMENDLPQKIQCTLSNPLFNTTSSIILTTCPSSGHSRH RYALIPIPLAVITTCIVLYMNGILKCDRKPDRNTNSN
SEQ ID NO: 3	인간 LFA3 이소형 1 도메인 1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYV
SEQ ID NO: 4	WT LFA3-Fc (또한 “LFA3-Fc WT”로 지칭됨)	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVdkthtccppcapellggpsvflfppkp kdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnсты rvsvltvlhqdwlngkeyckvsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsr deltnqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysklt vdkrsrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispgk
SEQ ID NO: 120	WT LFA3-Pfe	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVdkthtccppcapellggpsvflfppkp kdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnсты rvsvltvlhqdwlngkeyckvsnkalpapiektiskakgqprepqvylppsr eemtnqvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflysklt vdkrsrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispg
SEQ ID NO: 15	LFA3-Fc 융합 단백질의 리더 서열	<i>mgwscilflvatatgvs</i>
SEQ ID NO: 16	헌지-Pfe (인간 IgG1 Fc)	dkthtccppcapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqnстыrvsvltvlhqdwlngkeyckvsnkal papiektiskakgqprepqvylppsr eemtnqvsltclvkgfypsdiavewes ngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdkrsrwqqgnvfscsvmhealhnhyt qkslsispg
SEQ ID NO: 17	M1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 18	M2	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEFESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 19	M3	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRVFSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 20	M4	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRVFSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED

[0616]

		EYEFESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 21	M5	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEIRVFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEFESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 22	M6	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV EFENSELRVFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDE YEFESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 23	M7	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYV
SEQ ID NO: 24	d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVL
SEQ ID NO: 25	d3	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV AELENSEFRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVLES LPS
SEQ ID NO: 26	M1d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTFKFFLYV
SEQ ID NO: 27	M1d3	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTFKFFLYVLES LPS
SEQ ID NO: 28	M4d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRVFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEFESPNITDTFKFFLYVL
SEQ ID NO: 29	M7d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNITDTMKFFLYVL
SEQ ID NO: 30	CM1d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESRNGGPDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 31	CM2d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESRNPYRRFKFFLYVL
SEQ ID NO: 32	CM3d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESRNPYRDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 33	CM4d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESWNGGPDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 34	CM5d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESWNPYRRFKFFLYVL
SEQ ID NO: 35	CM6d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESWNPYRDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 36	ML1d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMEGRYPYESFKFFLYVL
SEQ ID NO: 37	ML2d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRVFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEFESWEPGREFKFFLYVL
SEQ ID NO: 38	ML3d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED

[0617]

		EYEMEARYPYRQFKFFLYVL
SEQ ID NO: 39	ML4d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMEMRNGGPDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 40	ML5d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMEARDGGPDFKFFLYVL
SEQ ID NO: 41	ML6d1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESWSPYKAFKFFLYVL
SEQ ID NO: 69	M1d1 LFA3-Fc 융합 단백질 (또한 “LFA3-Fc M1d1”, “M1d1”, “M1d1” 또는 “M1d1-Pfe”로 지칭됨)	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESPNTIDTFKFFLYVLdkthtcppcpapellggpsvflfppkp kdtlmsirtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynsty rvsvlvtlqhgdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqqvylppsr eemtknqvsltclvkgfyfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskl tvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqkslsispq
SEQ ID NO: 70	접촉 라이브러리 컨센서스 #1	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKX <sub>1</sub> VX <sub>2</sub> WX <sub>3</sub> KQX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> VAX <sub>7</sub> LX <sub>8</sub> NSX <sub>9</sub> FX <sub>10</sub> AX <sub>11</sub> X <sub>12</sub> SFKNRVYLDTVSGSLTIY NLTSSDEDEYEMESX <sub>13</sub> NX <sub>14</sub> TX <sub>15</sub> TMKFFLYVX <sub>16</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>2</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>3</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>4</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>5</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>6</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>7</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>8</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>9</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>10</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>11</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>12</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>13</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>14</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>15</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>16</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 71	접촉 라이브러리 컨센서스 #2	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKX <sub>1</sub> VX <sub>2</sub> WX <sub>3</sub> KQX <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> VAX <sub>7</sub> LX <sub>8</sub> NSX <sub>9</sub> FX <sub>10</sub> AX <sub>11</sub> X <sub>12</sub> SFKNRVYLDTVSGSLTIY NLTSSDEDEYEMESX <sub>13</sub> NX <sub>14</sub> TX <sub>15</sub> TMKFFLYVX <sub>16</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고, X <sub>2</sub> 는 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고, X <sub>3</sub> 은 K, R, M, T, Q, 또는 N이고, X <sub>4</sub> 는 K, R, M, T, Q, 또는 N이고, X <sub>5</sub> 는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고, X <sub>6</sub> 은 K, R, M, T, Q, 또는 N이고, X <sub>7</sub> 은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,

[0618]

		<p>X<sub>8</sub>은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>9</sub>는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>10</sub>은 K, R, M, T, Q, 또는 N이고,  X<sub>11</sub>은 F, Y, L, H, I, N, V, D, A, 또는 Y이고,  X<sub>12</sub>는 S, T, A, 또는 G이고,  X<sub>13</sub>은 P, L, H, R, 또는 A이고,  X<sub>14</sub>는 F, I, L, V, M, A, 또는 Nle이고,  X<sub>15</sub>는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>16</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 72	<p>접촉  라이브러리  컨센서스 #3</p>	<p>FSQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKX<sub>1</sub>VX<sub>2</sub>WX<sub>3</sub>KQX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>  X<sub>6</sub>VAX<sub>7</sub>LX<sub>8</sub>NSX<sub>9</sub>FX<sub>10</sub>AX<sub>11</sub>X<sub>12</sub>SFKNRVYLDTVSGSLTIY  NLTSSEDEYEMESX<sub>13</sub>NX<sub>14</sub>TX<sub>15</sub>TMKFFLYVX<sub>16</sub>,  여기서  X<sub>1</sub>은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>2</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,  X<sub>3</sub>은 K, R, M, 또는 T이고,  X<sub>4</sub>는 K, R, M, 또는 T이고,  X<sub>5</sub>는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>6</sub>은 K, R, M, 또는 T이고,  X<sub>7</sub>은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>8</sub>은 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>9</sub>는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>10</sub>은 K, R, M, 또는 T이고,  X<sub>11</sub>은 F, Y, L, H, I, N, V, 또는 D이고,  X<sub>12</sub>는 S, T, A, 또는 G이고,  X<sub>13</sub>은 P, L, H, 또는 R이고,  X<sub>14</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,  X<sub>15</sub>는 D, E, N, K, Q, 또는 H이고,  X<sub>16</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 73	<p>코어  라이브러리  컨센서스 #1</p>	<p>FSQIYGVVYGNVIX<sub>1</sub>HX<sub>2</sub>PSNVPX<sub>3</sub>KEX<sub>4</sub>LX<sub>5</sub>KKQKD  KX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EX<sub>8</sub>ENSEX<sub>9</sub>RX<sub>10</sub>FSSFKNRVYX<sub>11</sub>DTVX<sub>12</sub>SX<sub>13</sub>TI  YNLTSSEDEYEX<sub>14</sub>ESPNITDTX<sub>15</sub>KX<sub>16</sub>FLYVX<sub>17</sub>,  여기서  X<sub>1</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>2</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>3</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>4</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>5</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>6</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>7</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>8</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>9</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>10</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>11</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>12</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>13</sub>은 임의의 아미노산이고,  X<sub>14</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>15</sub>는 임의의 아미노산이고,  X<sub>16</sub>은 임의의 아미노산이고,</p>

[0619]

<p>SEQ ID NO: 74</p>	<p>코어 라이브러리 컨센서스 #2</p>	<p>X<sub>17</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.                  FSQQIYGVVYGNVTX<sub>1</sub>HX<sub>2</sub>PSNVPX<sub>3</sub>KEX<sub>4</sub>LX<sub>5</sub>KKQKD                  KX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EX<sub>8</sub>ENSEX<sub>9</sub>RX<sub>10</sub>FSSFKNRVYX<sub>11</sub>DTV SX<sub>12</sub>SX<sub>13</sub>TI                  YNLTSSEDEYEX<sub>14</sub>ESPNITDTX<sub>15</sub>KX<sub>16</sub>FLYVX<sub>17</sub>,                  여기서                  X<sub>1</sub>은 F, I, L, V, A, 또는 Y이고,                  X<sub>2</sub>는 F, I, L, V, M, A, 또는 Nle이고,                  X<sub>3</sub>은 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고,                  X<sub>4</sub>는 F, I, L, V, M, A, 또는 Nle이고,                  X<sub>5</sub>는 W, F, L, C, 또는 Y이고,                  X<sub>6</sub>은 F, I, L, V, M, A, 또는 Nle이고,                  X<sub>7</sub>은 A, V, S, L, 또는 I이고,                  X<sub>8</sub>은 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고,                  X<sub>9</sub>는 F, I, L, V, A, 또는 Y이고,                  X<sub>10</sub>은 A, V, S, L, 또는 I이고,                  X<sub>11</sub>은 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고,                  X<sub>12</sub>는 S, T, A, 또는 G이고,                  X<sub>13</sub>은 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고,                  X<sub>14</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>15</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>16</sub>은 F, I, L, V, A, 또는 Y이고,                  X<sub>17</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
<p>SEQ ID NO: 75</p>	<p>코어 라이브러리 컨센서스 #3</p>	<p>FSQQIYGVVYGNVTX<sub>1</sub>HX<sub>2</sub>PSNVPX<sub>3</sub>KEX<sub>4</sub>LX<sub>5</sub>KKQKD                  KX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>EX<sub>8</sub>ENSEX<sub>9</sub>RX<sub>10</sub>FSSFKNRVYX<sub>11</sub>DTV SX<sub>12</sub>SX<sub>13</sub>TI                  YNLTSSEDEYEX<sub>14</sub>ESPNITDTX<sub>15</sub>KX<sub>16</sub>FLYVX<sub>17</sub>,                  여기서                  X<sub>1</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>2</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>3</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>4</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>5</sub>는 W, F, L, 또는 C이고,                  X<sub>6</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>7</sub>은 A, V, S, 또는 L이고,                  X<sub>8</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>9</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>10</sub>은 A, V, S, 또는 L이고,                  X<sub>11</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>12</sub>는 S, T, A, 또는 G이고,                  X<sub>13</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>14</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>15</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>16</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>17</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
<p>SEQ ID NO: 76</p>	<p>핫스팟 컨센서스 #1</p>	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>3</sub>ESPNITDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 임의의 아미노산이고,                  X<sub>2</sub>는 임의의 아미노산이고,                  X<sub>3</sub>은 임의의 아미노산이고,</p>

[0620]

		<p>X<sub>4</sub>는 임의의 아미노산이고,                  X<sub>5</sub>는 임의의 아미노산이고,                  X<sub>6</sub>는 임의의 아미노산이고,                  X<sub>7</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 77	핫스팟 컨센서스 #2	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>3</sub>ESPNIIDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 A, V, S, L, 또는 I이고,                  X<sub>2</sub>는 F, I, L, V, Nle, M, 또는 A이고,                  X<sub>3</sub>은 F, I, L, V, A, 또는 Y이고,                  X<sub>4</sub>는 A, V, S, L, 또는 I이고,                  X<sub>5</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>6</sub>은 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>7</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 78	핫스팟 컨센서스 #3	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>3</sub>ESPNIIDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 A, V, S, 또는 L이고,                  X<sub>2</sub>는 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>3</sub>은 F, I, L, 또는 V이고,                  X<sub>4</sub>는 A, V, S, 또는 L이고,                  X<sub>5</sub>는 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>6</sub>은 M, L, I, 또는 F이고,                  X<sub>7</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 79	핫스팟 컨센서스 #4	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>3</sub>ESPNIIDTX<sub>6</sub>KFFLYVX<sub>7</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 V, L, 또는 A이고,                  X<sub>2</sub>는 F 또는 L이고,                  X<sub>3</sub>은 V, I, L, 또는 F이고,                  X<sub>4</sub>는 A, V, 또는 S이고,                  X<sub>5</sub>는 M, F, I, 또는 L이고,                  X<sub>6</sub>은 F, M, I, 또는 L이고,                  X<sub>7</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 80	핫스팟 컨센서스 #5	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>4</sub>ESPNIIDTX<sub>5</sub>KFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,                  X<sub>2</sub>는 V, I, 또는 L이고,                  X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,                  X<sub>4</sub>는 M 또는 F이고,                  X<sub>5</sub>는 F 또는 M이고,                  X<sub>6</sub>은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.</p>
SEQ ID NO: 81	핫스팟 컨센서스 #6	<p>FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV                  X<sub>1</sub>EFENSEX<sub>2</sub>RX<sub>3</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD                  EDEYEX<sub>4</sub>ESPNIIDTFKFFLYVX<sub>5</sub>, 여기서                  X<sub>1</sub>은 V 또는 L이고,                  X<sub>2</sub>는 V, I, 또는 L이고,                  X<sub>3</sub>은 A 또는 V이고,</p>

[0621]

		X <sub>4</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>5</sub> 는 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 82	핫스팟 컨센서스 #7	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEX <sub>1</sub> RX <sub>2</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>3</sub> ESPNITDTFKFLYVX <sub>4</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 V 또는 I이고, X <sub>2</sub> 는 A 또는 V이고, X <sub>3</sub> 은 M 또는 F이고, X <sub>4</sub> 는 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 83	LFA3 야생형 루프 영역	SPNITDT
SEQ ID NO: 84	루프 컨센서스 #1	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, M, 또는 T이고, X <sub>2</sub> 는 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, D, Q, H, K, 또는 R X <sub>4</sub> 는 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>5</sub> 는 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, P, D, 또는 N이고, X <sub>7</sub> 은 R, D, S, Q, A, E, T, 또는 S이다.
SEQ ID NO: 85	루프 컨센서스 #2	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>2</sub> 는 R, W, 또는 P이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>4</sub> 는 P, G, 또는 I이고, X <sub>5</sub> 는 Y, G, 또는 T이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, P, 또는 D이고, X <sub>7</sub> 은 R, D, S, Q, A, E, 또는 T이다.
SEQ ID NO: 86	루프 컨센서스 #3	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>2</sub> 는 R 또는 W이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>4</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>5</sub> 는 Y 또는 G이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>7</sub> 은 R, D, S, Q, A, 또는 E이다.
SEQ ID NO: 87	루프 컨센서스 #4	SX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>2</sub> 는 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>3</sub> 은 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>4</sub> 는 R, P, D, 또는 N이고, X <sub>5</sub> 는 R, D, T, 또는 S이다.
SEQ ID NO: 88	루프 컨센서스 #5	SX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 R, W, 또는 P이고, X <sub>2</sub> 는 P, G, 또는 I이고, X <sub>3</sub> 은 Y, G, 또는 T이고, X <sub>4</sub> 는 R, P, 또는 D이고, X <sub>5</sub> 는 R, D, 또는 T이다.
SEQ ID NO: 89	루프	SX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> , 여기서

[0622]

	컨센서스 #6	X <sub>1</sub> 은 R 또는 W이고, X <sub>2</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>3</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>4</sub> 는 R 또는 P이고, X <sub>5</sub> 는 R 또는 D이다.
SEQ ID NO: 90	루프 컨센서스 #7	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, M, 또는 T이고, X <sub>2</sub> 는 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, D, Q, H, K, 또는 R X <sub>4</sub> 는 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>5</sub> 는 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, P, D, 또는 N이고, X <sub>7</sub> 은 D, S, Q, A, E, T, 또는 S이다.
SEQ ID NO: 91	루프 컨센서스 #8	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>2</sub> 는 R, W, 또는 P이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>4</sub> 는 P, G, 또는 I이고, X <sub>5</sub> 는 Y, G, 또는 T이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, P, 또는 D이고, X <sub>7</sub> 은 D, S, Q, A, E, 또는 T이다.
SEQ ID NO: 92	루프 컨센서스 #9	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>2</sub> 는 R 또는 W이고, X <sub>3</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>4</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>5</sub> 는 Y 또는 G이고, X <sub>6</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>7</sub> 은 D, S, Q, A, 또는 E이다.
SEQ ID NO: 93	루프 컨센서스 #10	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNVPLKEVLWKKQKDKV X <sub>1</sub> EX <sub>2</sub> ENSEX <sub>3</sub> RX <sub>4</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD EDEYEX <sub>5</sub> EX <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> KFFLYVX <sub>14</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 V, L, 또는 A이고, X <sub>2</sub> 는 F 또는 L이고, X <sub>3</sub> 은 V, I, L, 또는 F이고, X <sub>4</sub> 는 A, V, 또는 S이고, X <sub>5</sub> 는 M, F, I, 또는 L이고, X <sub>6</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>7</sub> 은 R 또는 W이고, X <sub>8</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>9</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>10</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>11</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>12</sub> 는 R, D, S, Q, A, 또는 E이고, X <sub>13</sub> 은 F, M, I, 또는 L이고, X <sub>14</sub> 는 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 94	루프 컨센서스 #11	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNVPLKEVLWKKQKDKV X <sub>1</sub> EX <sub>2</sub> ENSEX <sub>3</sub> RX <sub>4</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSD

[0623]

		EDEYEX <sub>5</sub> EX <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> X <sub>10</sub> X <sub>11</sub> X <sub>12</sub> X <sub>13</sub> KFFLYVX <sub>14</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 V 또는 A이고, X <sub>2</sub> 는 F 또는 L이고, X <sub>3</sub> 은 V, I, 또는 F이고, X <sub>4</sub> 는 A 또는 V이고, X <sub>5</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>6</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>7</sub> 은 R 또는 W이고, X <sub>8</sub> 은 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>9</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>10</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>11</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>12</sub> 는 R, D, S, Q, A, 또는 E이고, X <sub>13</sub> 은 F 또는 M이고, X <sub>14</sub> 는 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 95	루프 컨센서스 #12	FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>2</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>3</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>4</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>5</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>6</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>7</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>8</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>9</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 96	루프 컨센서스 #13	FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A, V, L, 또는 I이고, X <sub>2</sub> 는 M, F, L, 또는 I이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, M, 또는 T이고, X <sub>4</sub> 는 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, D, Q, H, K, 또는 R이고, X <sub>6</sub> 은 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>7</sub> 은 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, P, D, 또는 N이고, X <sub>9</sub> 는 R, D, S, Q, A, E, T, 또는 S X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 97	루프 컨센서스 #14	FSQQIYGVVYGNVTFHVP SNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A 또는 V이고, X <sub>2</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>4</sub> 는 R, W, 또는 P이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, 또는 D이고,

[0624]

		X <sub>6</sub> 은 P, G, 또는 I이고, X <sub>7</sub> 은 Y, G, 또는 T이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, P, 또는 D이고, X <sub>9</sub> 는 R, D, S, Q, A, E, 또는 T이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 98	루프 퀀센서스 #15	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A 또는 V이고, X <sub>2</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>4</sub> 는 R 또는 W이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>6</sub> 은 P 또는 G이고, X <sub>7</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>9</sub> 는 R, D, S, Q, A, 또는 E이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 99	루프 퀀센서스 #16	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> FKFFLYVX <sub>6</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>2</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>3</sub> 은 임의의 아미노산이고, X <sub>4</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>5</sub> 는 임의의 아미노산이고, X <sub>6</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 100	루프 퀀센서스 #17	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> FKFFLYVX <sub>6</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>2</sub> 는 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>3</sub> 은 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>4</sub> 는 R, P, D, 또는 N이고, X <sub>5</sub> 는 R, D, T, 또는 S이고, X <sub>6</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 101	루프 퀀센서스 #18	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> FKFFLYVX <sub>6</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 R, W, 또는 P이고, X <sub>2</sub> 는 P, G, 또는 I이고, X <sub>3</sub> 은 Y, G, 또는 T이고, X <sub>4</sub> 는 R, P, 또는 D이고, X <sub>5</sub> 는 R, D, 또는 T이고, X <sub>6</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 102	루프 퀀센서스 #19	FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDED EYEMESX <sub>1</sub> NX <sub>2</sub> X <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> FKFFLYVX <sub>6</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 R 또는 W이고,

[0625]

		X <sub>2</sub> 는 P 또는 G이고, X <sub>3</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>4</sub> 는 R 또는 P이고, X <sub>5</sub> 는 R 또는 D이고, X <sub>6</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 103	루프 컨센서스 #20	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A, V, L, 또는 I이고, X <sub>2</sub> 는 M, F, L, 또는 I이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, M, 또는 T이고, X <sub>4</sub> 는 R, W, P, 또는 A이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, D, Q, H, K, 또는 R이고, X <sub>6</sub> 은 P, G, I, L, V, M, A, F, 또는 Nle이고, X <sub>7</sub> 은 Y, G, T, 또는 S이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, P, D, 또는 N이고, X <sub>9</sub> 는 D, S, Q, A, E, T, 또는 S이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 104	루프 컨센서스 #21	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A 또는 V이고, X <sub>2</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>4</sub> 는 R, W, 또는 P이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>6</sub> 은 P, G, 또는 I이고, X <sub>7</sub> 은 Y, G, 또는 T이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, P, 또는 D이고, X <sub>9</sub> 는 D, S, Q, A, E, 또는 T이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 105	루프 컨센서스 #22	FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKV VEFENSEVRX <sub>1</sub> FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDE DEYEX <sub>2</sub> EX <sub>3</sub> X <sub>4</sub> X <sub>5</sub> X <sub>6</sub> X <sub>7</sub> X <sub>8</sub> X <sub>9</sub> FKFFLYVX <sub>10</sub> , 여기서 X <sub>1</sub> 은 A 또는 V이고, X <sub>2</sub> 는 M 또는 F이고, X <sub>3</sub> 은 S, G, A, 또는 M이고, X <sub>4</sub> 는 R 또는 W이고, X <sub>5</sub> 는 N, Y, S, E, 또는 D이고, X <sub>6</sub> 은 P 또는 G이고, X <sub>7</sub> 은 Y 또는 G이고, X <sub>8</sub> 은 R, E, K, 또는 P이고, X <sub>9</sub> 는 D, S, Q, A, 또는 E이고, X <sub>10</sub> 은 부재하거나, L, 또는 LESLPS이다.
SEQ ID NO: 106	CM1d1 루프	SRNGGPD
SEQ ID NO: 107	CM2d1 루프	SRNPYRR
SEQ ID NO: 108	CM3d1 루프	SRNPYRD
SEQ ID NO: 109	CM4d1 루프	SWNGGPD
SEQ ID NO: 110	CM5d1 루프	SWNPYRR

[0626]

SEQ ID NO: 111	CM6d1 루프	SWNPYRD
SEQ ID NO: 112	ML1d1 루프	GRYPYES
SEQ ID NO: 113	ML2d1 루프	SWEPGRE
SEQ ID NO: 114	ML3d1 루프	ARYPYRQ
SEQ ID NO: 115	ML4d1 루프	MRNGGPD
SEQ ID NO: 116	ML5d1 루프	ARDGGPD
SEQ ID NO: 117	ML6d1 루프	SWSPYKA
SEQ ID NO: 118	C-말단 경계	LESLPS
SEQ ID NO: 119	C-말단 경계	LESLPSITLTCALTNGSIEV
SEQ ID NO: 128	IgG1 Fc 도메인	dkthtppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpetvcvvdvshedpevkf nwyvdgvevhnaktkpreeqnstyrsvltvlhqdwlngkeykckvsnkal papietkiskakgqprepqvylppsrdeitknqvsitclvkgfypsdiavewesn ggpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhcalhnhytq kslslspgk
SEQ ID NO: 129	리더	<u>mvagsdagralgvlsvvcllhcfgtisc</u>

[0627]

[0628] 표 3. 야생형 LFA3 및 LFA3 변이체의 예시적인 뉴클레오티드 서열.

SEQ ID NO	설명	서열
SEQ ID NO: 42	LFA3-Fc 융합 단백질의 리더 서열	<i>ATGGGCTGGTCTGTATCATCTCTTTCTGGTGGCCAC AGCTACCGGAGTGCATAGC</i>
SEQ ID NO: 43	헨지-Pfe	GACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACC TGAACCTCTGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCC CCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCCACGAGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTG TACACCCTGCCCCATCCCGGAAGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAACAATAACAAGACCACGC CTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGAAACGTCTTTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCGGGT
SEQ ID NO: 44	M1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACATCAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 45	M2	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATCGAGTCCCCTAATATTACA GACACATCAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 46	M3	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGTATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACATCAAGTTTTTTTTGTACGTT

[0629]

SEQ ID NO: 47	M4	TTTTCACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGTATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAATTCGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 48	M5	TTTTCACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGATTAGGGTATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAATTCGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 49	M6	TTTTCACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTTT AGAATTTGAGAATAGTGAGCTTAGGGTATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAATTCGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 50	M7	TTTTCACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACAATGAAGTTTTTTTTGTACGTT
SEQ ID NO: 51	d1	TTTTCCAACAAATATATGGTGTGTTGATGGGAAT GTAACTTTCCATGTACCAAGCAATGTGCCTTTAAAA GAGGTCCTATGGAAAAACAAAAGGATAAAAGTTG CAGAACTGGAAAATTCTGAATTCAGAGCTTTCTCA TCTTTTAAAAATAGGGTTTATTTAGACACTGTGTCA GGTAGCCTCACTATCTACAACCTAACATCATCAGAT GAAGATGAGTATGAAATGGAATCGCCAAATATTAC TGATACCATGAAGTTCTTTCTTTATGTCCTC
SEQ ID NO: 52	d3	TTTTCCAACAAATATATGGTGTGTTGATGGGAAT GTAACTTTCCATGTACCAAGCAATGTGCCTTTAAAA GAGGTCCTATGGAAAAACAAAAGGATAAAAGTTG CAGAACTGGAAAATTCTGAATTCAGAGCTTTCTCA TCTTTTAAAAATAGGGTTTATTTAGACACTGTGTCA GGTAGCCTCACTATCTACAACCTAACATCATCAGAT GAAGATGAGTATGAAATGGAATCGCCAAATATTAC TGATACCATGAAGTTCTTTCTTTATGTCCTTGAGAG TCTGCCAGC
SEQ ID NO: 53	M1d1	TTTTCACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG

[0630]

		GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTTCTC
SEQ ID NO: 54	M1d3	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTTCTTGAGAGT CTGCCCAGC
SEQ ID NO: 55	M4d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGTATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATCGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTTCTC
SEQ ID NO: 56	M7d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACCAATGAAGTTTTTTTTGTACGTTCTC
SEQ ID NO: 57	CM1d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCAGGAATGGTGG ACCTGATTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 58	CM2d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCAGGAATCCTTAT AGAAGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 59	CM3d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCAGGAATCCTTAT AGAGACTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 60	CM4d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTCACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG

[0631]

		GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCTGGAATGGTGG ACCTGATTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 61	CM5d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCTGGAATCCTTAT AGAAGGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 62	CM6d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCTGGAATCCTTAT AGAGACTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 63	ML1d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGGTCGGTATCCGTAT GAGTCGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 64	ML2d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGTATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAATTCGAGAGTTGGGAGCCTGGG AGGGAGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 65	ML3d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGGCTCGGTATCCTTAT CGGCAGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 66	ML4d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACA AAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTTAGTT CATTAAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGATGCGGAATGGTGG TCCTGATTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG

[0632]

SEQ ID NO: 67	ML5d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGGCGCGGGATGGGG TCCTGATTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 68	ML6d1	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCTGTGCTCCTTAT AAGGCGTTCAAGTTTTTTTTGTACGTTTTG
SEQ ID NO: 122	LFA3-Fc M1- d1 뉴클레오티드 (밀출표시 및 이탤릭체인 리더 서열 포함)	<u>ATGGGCTGGTCTGTATCATCCTCTTCTGGTGGCCAC</u> <u>AGCTACCGGAGTGCATAGCT</u> TTTTACAGCAGATTTA CGGTGTTGTTTACGGTAATGTGACTTTTACGTTCC GAGTAACGTTCTTTGAAGGAAGTCTTATGGAAAA AACAAAAAGATAAAGTTGTAGAATTTGAGAATAGT GAGGTTAGGGCATTAGTTTCAATTTAAGAATAGGGT CTATTTGGATACTGTATCCGGTTCTTTGACCATTTA TAATTTAACAAAGTAGTGATGAAGACGAGTACGAAA TGGAGTCCCCTAATATTACAGACACATTCAAGTTTT TTTTGTACGTTCTCGACAAAACTCACACATGCCAC CGTGCCACGACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTC ATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAAT GCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACA GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGA GAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGA GAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGA AGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTG GAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACTCCGACGGC TCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG AGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC CGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGC AGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGT
SEQ ID NO: 123	LFA3-Fc M1- d1 뉴클레오티드 (또한 “LFA3-Fc M1d1”, “M1d1”, “M1-d1” 또는 “M1d1-Pfe”로	TTTTACAGCAGATTTACGGTGTGTTTACGGTAAT GTGACTTTTACGTTCCGAGTAACGTTCTTTGAAG GAAGTCTTATGGAAAAACAAAAAGATAAAGTTGT AGAATTTGAGAATAGTGAGGTTAGGGCATTAGTT CATTTAAGAATAGGGTCTATTTGGATACTGTATCCG GTTCTTTGACCATTTATAATTTAACAAAGTAGTGATG AAGACGAGTACGAAATGGAGTCCCCTAATATTACA GACACATTCAAGTTTTTTTTGTACGTTCTCGACAAA ACTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAACT

[0633]

	지칭됨) (리더 서열 부재)	CCTGGGGGACCGTCACTTCTTCCCCAAA ACCCAAGGACACCTCATGATCTCCCGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCCGG GAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAG CGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACC TGCCCCATCCCGGGAAGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCC AGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGC AGCCGGAGAACAATAACAAGACCAGCCTCCCGTG TTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGA ACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGC ACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT CCGGGT
SEQ ID NO: 124	LFA3-Fc WT (밀줄표시된 리더 포함)	<u>ATGGTTGCTGGGAGCGACGCGGGGCGGGCCCTGGG</u> <u>GGTCCACAGCGTGTCTGCTGCTGCACTGCTTGGT</u> <u>TTCATCAGCTGTTTTTCCCAACAAATATATGGTGTG</u> TGTATGGGAATGTAACTTCCATGTACCAAGCAAT GTGCCTTTAAAAGAGGTCTATGGAAAAACAAAA GGATAAAGTTGCAGAACTGGAATAATTCTGAATTCA GAGCTTTCTCATCTTTTAAAAATAGGGTTTATTTAG ACACGTGTCAAGGTAGCCTCACTATCTACAACCTAA CATCATCAGATGAAGATGAGTATGAAATGGAATCG CCAAATATTACTGATACCATGAAGTTCTTTCTTTAT GTCGACAAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGC ACCTGAACTCCTGGGGGACCGTCACTTCTCTCT CCCCCAAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCC GGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTA CGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAAGCTCCTACCGTCTGCACCAGGACT GGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCAT CTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGAC CAAGAACCAGGTCAAGCTGACCTGCCTGGTCAAAG GCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAG AGCAATGGGCAGCCGGAACAATAACAAGACCA CGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCC TCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGAAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCA TGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCC TCTCCCTGTCTCCGGGTAAA
SEQ ID NO: 125	LFA3-Fc WT (리더 부재)	TTTTCCCAACAAATATATGGTGTGTGTATGGGAAT GTAACTTCCATGTACCAAGCAATGTGCCTTTAAA GAGGTCTATGGAAAAACAAAAGGATAAAGTTG CAGAACTGGAATAATTCTGAATTCAGAGCTTTCTCA TCTTTTAAAAATAGGGTTTATTTAGACACTGTGTCA GGTAGCCTCACTATCTACAACCTAACATCATCAGAT

[0634]

		GAAGATGAGTATGAAATGGAATCGCCAAATATTAC TGATACCATGAAGTTCTTTCTTTATGTGCAAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCC TGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCAAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAG GTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGA CCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCG TGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCG TCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCT CCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCA AAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGT CAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCA GCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGT TGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGC TCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCCTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTC CGGGTAAA
SEQ ID NO: 126	LFA3 WT 도메인	TTTTCCAACAAATATATGGTGTGTGTATGGGAAT GTAACTTTCCATGTACCAAGCAATGTGCCTTTAAAA GAGGTCCTATGGAAAAAACAAGGATAAAGTTG CAGAACTGGAAAAATTCTGAATTCAGAGCTTTCTCA TCTTTTAAAAATAGGGTTTATTTAGACACTGTGTCA GGTAGCCTCACTATCTACAACCTAACATCATCAGAT GAAGATGAGTATGAAATGGAATCGCCAAATATTAC TGATACCATGAAGTTCTTTCTTTATGTC
SEQ ID NO: 127	IgG1 Fc 도메인	GACAAAACCTCACATGCCACCGTGCCAGCACC TGAACCTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCC CCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGA CCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT GGTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGC TGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAAC AAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCACAGGTG TACACCCTGCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCT TCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGC AATGGGCAGCCGAGAAACAACACTACAAGACCACGC CTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTCT ACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCA GCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCCTACACGCAGAAGAGCCTC TCCCTGTCTCCGGTAAA
SEQ ID NO: 130	리더	ATGGTGTCTGGGAGCGACGCGGGGGCGGGCCCTGGG GGTCTCAGCGTGGTCTGCTGCTGCTGCTGCTTGGT TTCATCAGCTGT

[0635]

[0636]

M1d1 LFA3-Fc 융합 단백질의 아미노산 서열은 서열식별번호: 69로서 제공된다. 4개의 비-천연 아미노산 치환 (A36V, L38F, F43V 및 M86F)은 볼드체 및 밑줄표시되어 있다. LFA3 도메인의 C-말단 잔기 (L93)는 이중 밑줄로 표시되어 있다. 4개의 예측된 N-연결된 글리코실화 부위 (N12, N66, N81 및 N170)는 점선 밑줄로 표시되어 있다.

FSQQIYGVVYG**N**VTFHVP**S**NVPLKEVLWKKQKDKV**VE**FENSE**V**RAFSSFKNRVYLD  
TVSGSLTIY**N**LTSSDEDEYEMESP**N**ITDT**F**KFFLYV**L**DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL  
FPPKPKDITLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY**N**S  
TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR  
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV  
DKSRWQQGNV**F**SCSV**M**HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 69)

[0637]

[0638]

한 측면에서, 추가의 폴리펩티드 분자는 하기 실시양태 중 1개 이상을 포함한다.

[0639]

A1. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 70의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 70의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메

인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [0640] A2. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0641] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKX<sub>1</sub>VX<sub>2</sub>WX<sub>3</sub>KQX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>VAX<sub>7</sub>LX<sub>8</sub>NSX<sub>9</sub>FX<sub>10</sub>AX<sub>11</sub>X<sub>12</sub>SFKNRVYLDTVSGSLTIYNTSSDEDEYEMESX<sub>13</sub>NX<sub>14</sub>TX<sub>15</sub>TMKFFLYVX<sub>16</sub>, 여기서
- [0642] X<sub>1</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0643] X<sub>2</sub>는 F, I, L, V, Nle, M 또는 A이고,
- [0644] X<sub>3</sub>은 K, R, M, T, Q 또는 N이고,
- [0645] X<sub>4</sub>는 K, R, M, T, Q 또는 N이고,
- [0646] X<sub>5</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0647] X<sub>6</sub>은 K, R, M, T, Q 또는 N이고,
- [0648] X<sub>7</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0649] X<sub>8</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0650] X<sub>9</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0651] X<sub>10</sub>은 K, R, M, T, Q 또는 N이고,
- [0652] X<sub>11</sub>은 F, Y, L, H, I, N, V, D, A 또는 Y이고,
- [0653] X<sub>12</sub>는 S, T, A 또는 G이고,
- [0654] X<sub>13</sub>은 P, L, H, R 또는 A이고,
- [0655] X<sub>14</sub>는 F, I, L, V, M, A 또는 Nle이고,
- [0656] X<sub>15</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0657] X<sub>16</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 71)을 포함하거나,
- [0658] 또는 서열식별번호: 71의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0659] A3. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0660] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSVPLKX<sub>1</sub>VX<sub>2</sub>WX<sub>3</sub>KQX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>VAX<sub>7</sub>LX<sub>8</sub>NSX<sub>9</sub>FX<sub>10</sub>AX<sub>11</sub>X<sub>12</sub>SFKNRVYLDTVSGSLTIYNTSSDEDEYEMESX<sub>13</sub>NX<sub>14</sub>TX<sub>15</sub>TMKFFLYVX<sub>16</sub>, 여기서
- [0661] X<sub>1</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0662] X<sub>2</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0663] X<sub>3</sub>은 K, R, M 또는 T이고,
- [0664] X<sub>4</sub>는 K, R, M 또는 T이고,
- [0665] X<sub>5</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,

- [0666] X<sub>6</sub>은 K, R, M 또는 T이고,
- [0667] X<sub>7</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0668] X<sub>8</sub>은 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0669] X<sub>9</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0670] X<sub>10</sub>은 K, R, M 또는 T이고,
- [0671] X<sub>11</sub>은 F, Y, L, H, I, N, V 또는 D이고,
- [0672] X<sub>12</sub>는 S, T, A 또는 G이고,
- [0673] X<sub>13</sub>은 P, L, H 또는 R이고,
- [0674] X<sub>14</sub>는 F, I, L 또는 V이고,
- [0675] X<sub>15</sub>는 D, E, N, K, Q 또는 H이고,
- [0676] X<sub>16</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 72)을 포함하거나,
- [0677] 또는 서열식별번호: 72의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0678] A4. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 25, 27, 29, 32, 33, 34, 37, 39, 42, 44, 46, 47, 80, 82 또는 84에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어 치환, 결실 또는 부가)를 포함하고, 예를 들어 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해 잔기 25, 27, 29, 32, 33, 34, 37, 39, 42, 44, 46, 47, 80, 82 또는 84에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)를 갖는 서열식별번호: 3을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0679] A5. A4에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0680] i. E25D, E25N, E25K, E25Q 또는 E25H로부터 선택된 치환,
- [0681] ii. L27F, L27I, L27V, L27N1e, L27M 또는 L27A로부터 선택된 치환,
- [0682] iii. K29R, K29M, K29T, K29Q 또는 K29N로부터 선택된 치환,
- [0683] iv. K32R, K32M, K32T, K32Q 또는 K32N로부터 선택된 치환,
- [0684] v. D33E, D33N, D33K, D33Q 또는 D33H로부터 선택된 치환,
- [0685] vi. K34R, K34M, K34T, K34Q 또는 K34N로부터 선택된 치환,
- [0686] vii. E37D, E37N, E37K, E37Q 또는 E37H로부터 선택된 치환,
- [0687] viii. E39D, E39N, E39K, E39Q 또는 E39H로부터 선택된 치환,
- [0688] ix. E42D, E42N, E42K, E42Q 또는 E42H로부터 선택된 치환,
- [0689] x. R44K, R44M, R44T, R44Q 또는 R44N로부터 선택된 치환,
- [0690] xi. F46Y, F46L, F46H, F46I, F46N, F46V, F46D, F46A 또는 F46Y로부터 선택된 치환,
- [0691] xii. S47T, S47A 또는 S47G로부터 선택된 치환,
- [0692] xiii. P80L, P80H, P80R 또는 P80A로부터 선택된 치환,
- [0693] xiv. I82F, I82L, I82V, I82M, I82A 또는 I82N1e로부터 선택된 치환, 또는
- [0694] xv. D84E, D84N, D84K, D84Q 또는 D84H로부터 선택된 치환.

- [0695] A6. A4에 있어서, 1개 이상의 돌연변이가 하기 치환 중 1개 이상을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자:
- [0696] i. E25D, E25N, E25K, E25Q 또는 E25H로부터 선택된 치환,
- [0697] ii. L27F, L27I 또는 L27V로부터 선택된 치환,
- [0698] iii. K29R, K29M 또는 K29T로부터 선택된 치환,
- [0699] iv. K32R, K32M 또는 K32T로부터 선택된 치환,
- [0700] v. D33E, D33N, D33K, D33Q 또는 D33H로부터 선택된 치환,
- [0701] vi. K34R, K34M 또는 K34T로부터 선택된 치환,
- [0702] vii. E37D, E37N, E37K, E37Q 또는 E37H로부터 선택된 치환,
- [0703] viii. E39D, E39N, E39K, E39Q 또는 E39H로부터 선택된 치환,
- [0704] ix. E42D, E42N, E42K, E42Q 또는 E42H로부터 선택된 치환,
- [0705] x. R44K, R44M 또는 R44T로부터 선택된 치환,
- [0706] xi. F46Y, F46L, F46H, F46I, F46N, F46V 또는 F46D로부터 선택된 치환,
- [0707] xii. S47T, S47A 또는 S47G로부터 선택된 치환,
- [0708] xiii. P80L, P80H 또는 P80R로부터 선택된 치환,
- [0709] xiv. I82F, I82L 또는 I82V로부터 선택된 치환, 또는
- [0710] xv. D84E, D84N, D84K, D84Q 또는 D84H로부터 선택된 치환.
- [0711] A7. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0712]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0713]  $X_1$ 은 S, G, A, M 또는 T이고,
- [0714]  $X_2$ 는 R, W, P 또는 A이고,
- [0715]  $X_3$ 은 N, Y, S, E, D, Q, H, K 또는 R이고,
- [0716]  $X_4$ 는 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0717]  $X_5$ 는 Y, G, T 또는 S이고,
- [0718]  $X_6$ 은 R, E, K, P, D 또는 N이고,
- [0719]  $X_7$ 은 R, D, S, Q, A, E, T 또는 S인 것 (서열식별번호: 84)을 포함하거나,
- [0720] 또는 서열식별번호: 84의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 SPNITDT (서열식별번호: 83)의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0721] A8. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0722]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0723]  $X_1$ 은 S, G, A 또는 M이고,
- [0724]  $X_2$ 는 R, W 또는 P이고,

- [0725] X<sub>3</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0726] X<sub>4</sub>는 P, G 또는 I이고,
- [0727] X<sub>5</sub>는 Y, G 또는 T이고,
- [0728] X<sub>6</sub>은 R, E, K, P 또는 D이고,
- [0729] X<sub>7</sub>은 R, D, S, Q, A, E 또는 T인 것 (서열식별번호: 85)을 포함하거나,  
또는 서열식별번호: 85의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0731] A9. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0732] X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>, 여기서
- [0733] X<sub>1</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0734] X<sub>2</sub>는 R 또는 W이고,
- [0735] X<sub>3</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0736] X<sub>4</sub>는 P 또는 G이고,
- [0737] X<sub>5</sub>는 Y 또는 G이고,
- [0738] X<sub>6</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0739] X<sub>7</sub>은 R, D, S, Q, A 또는 E인 것 (서열식별번호: 86)을 포함하거나,  
또는 서열식별번호: 86의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0741] A10. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0742] X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>, 여기서
- [0743] X<sub>1</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0744] X<sub>2</sub>는 R 또는 W이고,
- [0745] X<sub>3</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0746] X<sub>4</sub>는 P 또는 G이고,
- [0747] X<sub>5</sub>는 Y 또는 G이고,
- [0748] X<sub>6</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0749] X<sub>7</sub>은 R, D, S, Q, A 또는 E인 것 (서열식별번호: 86)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0750] A11. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:

- [0751]  $SX_1NX_2X_3X_4X_5$ , 여기서
- [0752]  $X_1$ 은 R, W, P 또는 A이고,
- [0753]  $X_2$ 는 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0754]  $X_3$ 은 Y, G, T 또는 S이고,
- [0755]  $X_4$ 는 R, P, D 또는 N이고,
- [0756]  $X_5$ 는 R, D, T 또는 S인 것 (서열식별번호: 87)을 포함하거나,
- [0757] 또는 서열식별번호: 87의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0758] A12. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0759]  $SX_1NX_2X_3X_4X_5$ , 여기서
- [0760]  $X_1$ 은 R, W 또는 P이고,
- [0761]  $X_2$ 는 P, G 또는 I이고,
- [0762]  $X_3$ 은 Y, G 또는 T이고,
- [0763]  $X_4$ 는 R, P 또는 D이고,
- [0764]  $X_5$ 는 R, D 또는 T인 것 (서열식별번호: 88)을 포함하거나,
- [0765] 또는 서열식별번호: 88의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0766] A13. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0767]  $SX_1NX_2X_3X_4X_5$ , 여기서
- [0768]  $X_1$ 은 R 또는 W이고,
- [0769]  $X_2$ 는 P 또는 G이고,
- [0770]  $X_3$ 은 Y 또는 G이고,
- [0771]  $X_4$ 는 R 또는 P이고,
- [0772]  $X_5$ 는 R 또는 D인 것 (서열식별번호: 89)을 포함하거나,
- [0773] 또는 서열식별번호: 89의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0774] A14. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0775]  $SX_1NX_2X_3X_4X_5$ , 여기서

- [0776]  $X_1$ 은 R 또는 W이고,
- [0777]  $X_2$ 는 P 또는 G이고,
- [0778]  $X_3$ 은 Y 또는 G이고,
- [0779]  $X_4$ 는 R 또는 P이고,
- [0780]  $X_5$ 는 R 또는 D인 것 (서열식별번호: 89)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0781] A15. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0782]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0783]  $X_1$ 은 S, G, A, M 또는 T이고,
- [0784]  $X_2$ 는 R, W, P 또는 A이고,
- [0785]  $X_3$ 은 N, Y, S, E, D, Q, H, K 또는 R이고,
- [0786]  $X_4$ 는 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0787]  $X_5$ 는 Y, G, T 또는 S이고,
- [0788]  $X_6$ 은 R, E, K, P, D 또는 N이고,
- [0789]  $X_7$ 은 D, S, Q, A, E, T 또는 S인 것 (서열식별번호: 90)을 포함하거나,
- [0790] 또는 서열식별번호: 90의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0791] A16. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0792]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0793]  $X_1$ 은 S, G, A 또는 M이고,
- [0794]  $X_2$ 는 R, W 또는 P이고,
- [0795]  $X_3$ 은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0796]  $X_4$ 는 P, G 또는 I이고,
- [0797]  $X_5$ 는 Y, G 또는 T이고,
- [0798]  $X_6$ 은 R, E, K, P 또는 D이고,
- [0799]  $X_7$ 은 D, S, Q, A, E 또는 T인 것 (서열식별번호: 91)을 포함하거나,
- [0800] 또는 서열식별번호: 91의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0801] A17. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:

- [0802]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0803]  $X_1$ 은 S, G, A 또는 M이고,
- [0804]  $X_2$ 는 R 또는 W이고,
- [0805]  $X_3$ 은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0806]  $X_4$ 는 P 또는 G이고,
- [0807]  $X_5$ 는 Y 또는 G이고,
- [0808]  $X_6$ 은 R, E, K 또는 P이고,
- [0809]  $X_7$ 은 D, S, Q, A 또는 E인 것 (서열식별번호: 92)을 포함하거나,
- [0810] 또는 서열식별번호: 92의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0811] A18. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0812]  $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7$ , 여기서
- [0813]  $X_1$ 은 S, G, A 또는 M이고,
- [0814]  $X_2$ 는 R 또는 W이고,
- [0815]  $X_3$ 은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0816]  $X_4$ 는 P 또는 G이고,
- [0817]  $X_5$ 는 Y 또는 G이고,
- [0818]  $X_6$ 은 R, E, K 또는 P이고,
- [0819]  $X_7$ 은 D, S, Q, A 또는 E인 것 (서열식별번호: 92)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0820] A19. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0821] FSQQIYGVVYGNVTFHVPSNVPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>EX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>KFFLY VX<sub>14</sub>, 여기서
- [0822]  $X_1$ 은 V, L 또는 A이고,
- [0823]  $X_2$ 는 F 또는 L이고,
- [0824]  $X_3$ 은 V, I, L 또는 F이고,
- [0825]  $X_4$ 는 A, V 또는 S이고,
- [0826]  $X_5$ 는 M, F, I 또는 L이고,
- [0827]  $X_6$ 은 S, G, A 또는 M이고,
- [0828]  $X_7$ 은 R 또는 W이고,

- [0829] X<sub>8</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0830] X<sub>9</sub>는 P 또는 G이고,
- [0831] X<sub>10</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0832] X<sub>11</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0833] X<sub>12</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0834] X<sub>13</sub>은 F, M, I 또는 L이고,
- [0835] X<sub>14</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 93)을 포함하거나,
- [0836] 또는 서열식별번호: 93의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0837] A20. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0838] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>EX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>KFFLY VX<sub>14</sub>, 여기서
- [0839] X<sub>1</sub>은 V, L 또는 A이고,
- [0840] X<sub>2</sub>는 F 또는 L이고,
- [0841] X<sub>3</sub>은 V, I, L 또는 F이고,
- [0842] X<sub>4</sub>는 A, V 또는 S이고,
- [0843] X<sub>5</sub>는 M, F, I 또는 L이고,
- [0844] X<sub>6</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0845] X<sub>7</sub>은 R 또는 W이고,
- [0846] X<sub>8</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0847] X<sub>9</sub>는 P 또는 G이고,
- [0848] X<sub>10</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0849] X<sub>11</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0850] X<sub>12</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0851] X<sub>13</sub>은 F, M, I 또는 L이고,
- [0852] X<sub>14</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 93)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0853] A21. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0854] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>EX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>KFFLY VX<sub>14</sub>, 여기서

- [0855] X<sub>1</sub>은 V 또는 A이고,
- [0856] X<sub>2</sub>는 F 또는 L이고,
- [0857] X<sub>3</sub>은 V, I 또는 F이고,
- [0858] X<sub>4</sub>는 A 또는 V이고,
- [0859] X<sub>5</sub>는 M 또는 F이고,
- [0860] X<sub>6</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0861] X<sub>7</sub>은 R 또는 W이고,
- [0862] X<sub>8</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0863] X<sub>9</sub>는 P 또는 G이고,
- [0864] X<sub>10</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0865] X<sub>11</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0866] X<sub>12</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0867] X<sub>13</sub>은 F 또는 M이고,
- [0868] X<sub>14</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 94)을 포함하거나,  
 또는 서열식별번호: 94의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0870] A22. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0871] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVX<sub>1</sub>EX<sub>2</sub>ENSEX<sub>3</sub>RX<sub>4</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>5</sub>EX<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>KFFLY  
 VX<sub>14</sub>, 여기서
- [0872] X<sub>1</sub>은 V 또는 A이고,
- [0873] X<sub>2</sub>는 F 또는 L이고,
- [0874] X<sub>3</sub>은 V, I 또는 F이고,
- [0875] X<sub>4</sub>는 A 또는 V이고,
- [0876] X<sub>5</sub>는 M 또는 F이고,
- [0877] X<sub>6</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0878] X<sub>7</sub>은 R 또는 W이고,
- [0879] X<sub>8</sub>은 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0880] X<sub>9</sub>는 P 또는 G이고,
- [0881] X<sub>10</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0882] X<sub>11</sub>은 R, E, K 또는 P이고,

- [0883] X<sub>12</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0884] X<sub>13</sub>은 F 또는 M이고,
- [0885] X<sub>14</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 94)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0886] A23. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 95의 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 95의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0887] A24. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0888] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>,  
여기서
- [0889] X<sub>1</sub>은 A, V, L 또는 I이고,
- [0890] X<sub>2</sub>는 M, F, L 또는 I이고,
- [0891] X<sub>3</sub>은 S, G, A, M 또는 T이고,
- [0892] X<sub>4</sub>는 R, W, P 또는 A이고,
- [0893] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E, D, Q, H, K 또는 R이고,
- [0894] X<sub>6</sub>은 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0895] X<sub>7</sub>은 Y, G, T 또는 S이고,
- [0896] X<sub>8</sub>은 R, E, K, P, D 또는 N이고,
- [0897] X<sub>9</sub>는 R, D, S, Q, A, E, T 또는 S이고,
- [0898] X<sub>10</sub>는 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 96)을 포함하거나,
- [0899] 또는 서열식별번호: 96의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0900] A25. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0901] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>,  
여기서
- [0902] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [0903] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [0904] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0905] X<sub>4</sub>는 R, W 또는 P이고,
- [0906] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0907] X<sub>6</sub>은 P, G 또는 I이고,

- [0908] X<sub>7</sub>은 Y, G 또는 T이고,
- [0909] X<sub>8</sub>은 R, E, K, P 또는 D이고,
- [0910] X<sub>9</sub>는 R, D, S, Q, A, E 또는 T이고,
- [0911] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 97)을 포함하거나,
- [0912] 또는 서열식별번호: 97의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0913] A26. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0914] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>, 여기서
- [0915] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [0916] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [0917] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0918] X<sub>4</sub>는 R 또는 W이고,
- [0919] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0920] X<sub>6</sub>은 P 또는 G이고,
- [0921] X<sub>7</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0922] X<sub>8</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0923] X<sub>9</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0924] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 98)을 포함하거나,
- [0925] 또는 서열식별번호: 98의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0926] A27. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0927] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>, 여기서
- [0928] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [0929] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [0930] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [0931] X<sub>4</sub>는 R 또는 W이고,
- [0932] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [0933] X<sub>6</sub>은 P 또는 G이고,

- [0934] X<sub>7</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0935] X<sub>8</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [0936] X<sub>9</sub>는 R, D, S, Q, A 또는 E이고,
- [0937] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 98)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0938] A28. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0939] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESX<sub>1</sub>NX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>FKFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서
- [0940] X<sub>1</sub>은 임의의 아미노산이고,
- [0941] X<sub>2</sub>는 임의의 아미노산이고,
- [0942] X<sub>3</sub>은 임의의 아미노산이고,
- [0943] X<sub>4</sub>는 임의의 아미노산이고,
- [0944] X<sub>5</sub>는 임의의 아미노산이고,
- [0945] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 99)을 포함하거나,
- [0946] 또는 서열식별번호: 99의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0947] A29. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0948] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESX<sub>1</sub>NX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>FKFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서
- [0949] X<sub>1</sub>은 R, W, P 또는 A이고,
- [0950] X<sub>2</sub>는 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0951] X<sub>3</sub>은 Y, G, T 또는 S이고,
- [0952] X<sub>4</sub>는 R, P, D 또는 N이고,
- [0953] X<sub>5</sub>는 R, D, T 또는 S이고,
- [0954] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 100)을 포함하거나,
- [0955] 또는 서열식별번호: 100의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0956] A30. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0957] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESX<sub>1</sub>NX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>FKFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서
- [0958] X<sub>1</sub>은 R, W 또는 P이고,

- [0959] X<sub>2</sub>는 P, G 또는 I이고,
- [0960] X<sub>3</sub>은 Y, G 또는 T이고,
- [0961] X<sub>4</sub>는 R, P 또는 D이고,
- [0962] X<sub>5</sub>는 R, D 또는 T이고,
- [0963] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 101)을 포함하거나,
- [0964] 또는 서열식별번호: 101의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0965] A31. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0966] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESX<sub>1</sub>NX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>FKFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서
- [0967] X<sub>1</sub>은 R 또는 W이고,
- [0968] X<sub>2</sub>는 P 또는 G이고,
- [0969] X<sub>3</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0970] X<sub>4</sub>는 R 또는 P이고,
- [0971] X<sub>5</sub>는 R 또는 D이고,
- [0972] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 102)을 포함하거나,
- [0973] 또는 서열식별번호: 102의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0974] A32. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0975] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRAFSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEMESX<sub>1</sub>NX<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>FKFFLYVX<sub>6</sub>, 여기서
- [0976] X<sub>1</sub>은 R 또는 W이고,
- [0977] X<sub>2</sub>는 P 또는 G이고,
- [0978] X<sub>3</sub>은 Y 또는 G이고,
- [0979] X<sub>4</sub>는 R 또는 P이고,
- [0980] X<sub>5</sub>는 R 또는 D이고,
- [0981] X<sub>6</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 102)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0982] A33. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0983] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>, 여기서

- [0984] X<sub>1</sub>은 A, V, L 또는 I이고,
- [0985] X<sub>2</sub>는 M, F, L 또는 I이고,
- [0986] X<sub>3</sub>은 S, G, A, M 또는 T이고,
- [0987] X<sub>4</sub>는 R, W, P 또는 A이고,
- [0988] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E, D, Q, H, K 또는 R이고,
- [0989] X<sub>6</sub>은 P, G, I, L, V, M, A, F 또는 Nle이고,
- [0990] X<sub>7</sub>은 Y, G, T 또는 S이고,
- [0991] X<sub>8</sub>은 R, E, K, P, D 또는 N이고,
- [0992] X<sub>9</sub>는 D, S, Q, A, E, T 또는 S이고,
- [0993] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 103)을 포함하거나,
- [0994] 또는 서열식별번호: 103의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [0995] A34. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [0996] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>,  
여기서
- [0997] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [0998] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [0999] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [1000] X<sub>4</sub>는 R, W 또는 P이고,
- [1001] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [1002] X<sub>6</sub>은 P, G 또는 I이고,
- [1003] X<sub>7</sub>은 Y, G 또는 T이고,
- [1004] X<sub>8</sub>은 R, E, K, P 또는 D이고,
- [1005] X<sub>9</sub>는 D, S, Q, A, E 또는 T이고,
- [1006] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 104)을 포함하거나,
- [1007] 또는 서열식별번호: 104의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1008] A35. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [1009] FSQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>,  
여기서

- [1010] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [1011] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [1012] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [1013] X<sub>4</sub>는 R 또는 W이고,
- [1014] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [1015] X<sub>6</sub>은 P 또는 G이고,
- [1016] X<sub>7</sub>은 Y 또는 G이고,
- [1017] X<sub>8</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [1018] X<sub>9</sub>는 D, S, Q, A 또는 E이고,
- [1019] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 105)을 포함하거나,
- [1020] 또는 서열식별번호: 104의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1021] A36. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 하기의 아미노산 서열:
- [1022] FSQQIYGVVYGNVTFHVPNSNPLKEVLWKKQKDKVVEFENSEVRX<sub>1</sub>FSSFKNRVYLDTVSGSLTIYNLTSSDEDEYEX<sub>2</sub>EX<sub>3</sub>X<sub>4</sub> X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>FKFFLYVX<sub>10</sub>,  
여기서
- [1023] X<sub>1</sub>은 A 또는 V이고,
- [1024] X<sub>2</sub>는 M 또는 F이고,
- [1025] X<sub>3</sub>은 S, G, A 또는 M이고,
- [1026] X<sub>4</sub>는 R 또는 W이고,
- [1027] X<sub>5</sub>는 N, Y, S, E 또는 D이고,
- [1028] X<sub>6</sub>은 P 또는 G이고,
- [1029] X<sub>7</sub>은 Y 또는 G이고,
- [1030] X<sub>8</sub>은 R, E, K 또는 P이고,
- [1031] X<sub>9</sub>는 D, S, Q, A 또는 E이고,
- [1032] X<sub>10</sub>은 부재하거나, L 또는 LESLPS인 것 (서열식별번호: 105)을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1033] A37. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 106-117로부터 선택된 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1034] A38. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 106의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.







고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 40의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.

- [1080] A84. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1081] A85. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 41의 아미노산 서열 또는 그의 기능적 변이체 (예를 들어, 그에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열)를 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 83의 아미노산 서열을 포함하지 않는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1082] A86. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1083] A87. CD2에 특이적으로 결합하는 단리된 폴리펩티드 분자이며, 여기서 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하고, 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 79, 80, 81, 82, 83, 84 또는 85에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어 치환, 결실 또는 부가)를 포함하고, 예를 들어 여기서 LFA3 도메인은 서열식별번호: 3에 비해, 서열식별번호: 3에 따라 넘버링된 잔기 79, 80, 81, 82, 83, 84 또는 85에서의 1개 이상의 돌연변이 (예를 들어, 치환, 결실 또는 부가)를 갖는 서열식별번호: 3을 포함하는 것인 단리된 폴리펩티드 분자.
- [1084] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 LFA3 도메인을 포함하며, 여기서 LFA3 도메인은 본원에 개시된 임의의 LFA3 변이체 서열 (예를 들어, 표 2에 개시된 임의의 LFA3 변이체 서열)이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170 또는 180개 이하의 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 92개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 93개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 98개 아미노산 길이이다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 LFA3의 제1 세포외 도메인으로부터 유래된다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 야생형 LFA3 서열에 비해 6, 10, 15, 20 또는 30개 이하의 아미노산 돌연변이 (예를 들어, 치환, 부가 또는 결실)를 포함한다. 일부 실시양태에서, LFA3 도메인은 야생형 LFA3 서열에 비해 5개의 아미노산 치환을 포함한다.
- [1085] 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 제조할 단백질의 생산을 위한 일반적 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 본원에 기재되어 있다.
- [1086] 초기 확인 후, 후보 LFA3 폴리펩티드 분자의 활성은 표적화된 생물학적 활성을 시험하는 것으로 공지된 생물검정에 의해 추가로 확인되고 정밀화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 시험관내 세포 검정은 후보 LFA3 폴리펩티드 분자를 추가로 특징화하기 위해 사용된다. 예를 들어, 생물검정을 사용하여 후보를 직접적으로 스크리닝할 수 있다. LFA3 폴리펩티드 분자를 확인하고 특징화하기 위한 일부 방법이 실시예에 상세하게 기재된다.
- [1087] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 LFA3 폴리펩티드 분자는 Fc 도메인을 포함한다. Fc 도메인은 IgA (예를 들어, IgA1 또는 IgA2), IgG, IgE 또는 IgG (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4)로부터 유래될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 도메인은 IgG1 Fc 도메인이다. 일부 실시양태에서, IgG1 Fc 도메인은 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 포함한다.
- [1088] 한 측면에서, 본 발명은 하기 특성 중 1개 이상을 갖는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 개시한다: (a) 야생형 LFA3 서열에 비해 증진된 단량체 발현, (b) 야생형 LFA3 서열에 비해 감소된 다량체 발현, (c) 야생형 LFA3 서열에 비해 열 응력 하의 감소된 응집 경향, (d) 야생형 LFA3 서열에 비해 낮은 pH 하의 감소된 응집 경향, (e) 야생형 LFA3 서열에 비해 증진된 동결-해동 안정성, (f) 야생형 LFA3 서열에 비해 증가된 수율, (g) 야생형 LFA3 서열에 비해 증가된 용융 온도 (Tm).
- [1089] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 3a와 관련하여 실시예 1에 기재된 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 70, 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 초과인 단량체의 백분율을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 6c와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99% 초과인 단량체의 백분율, 약 10, 8, 6, 4 또는 2% 미만인 저분자량 중 (LMWS)의 백분율 및/또는 약 5, 2 또는 1% 미만인 고분자

량 중 (HMWS)의 백분율을 나타낸다.

- [1090] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 3d와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 37.4°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 90, 92 또는 95% 초과인 단량체의 백분율을 나타내고/거나 40°C에서 24시간 동안 인큐베이션한 후 약 75, 80 또는 85% 초과인 단량체의 백분율을 나타낸다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 40°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15 또는 20% 이하의 증가 및/또는 50°C에서 HMWS의 약 5, 10, 15, 20 또는 25% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1091] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 5시간 동안 낮은 pH에서 HMWS의 약 6, 7, 8 또는 9% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1092] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 SEC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 5회 사이클의 동결-해동 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1093] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 본 발명의 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 30a-30c 및/또는 도 31a-31d와 관련하여 실시예 3에 기재된 모세관 겔 전기영동 (CGE), 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 40°C에서 2 또는 4주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1, 2, 3, 4 또는 5% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1094] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 본 발명의 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 32a-32d와 관련하여 실시예 3에 기재된 SE-HPLC 방법을 사용하여 측정시, 25°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1, 1.5 또는 2% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1095] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 본 발명의 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 33a-33d와 관련하여 실시예 3에 기재된 SE-HPLC 방법을 사용하여 측정시, 5°C에서 2, 4 또는 6주의 저장 후 HMWS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가 및/또는 LMMS의 약 0.5, 1 또는 1.5% 이하의 증가를 나타낸다.
- [1096] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 3b와 관련하여 실시예 1에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 20mL Expi293 배양물당 약 5.5, 6, 6.5 또는 7 mg 초과인 수율을 갖는다.
- [1097] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 3c와 관련하여 실시예 1에 기재된 시차 주사 열광측정법 (DSF) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 38, 40, 42 또는 45°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 5b와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 40, 45, 50, 55 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 6d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 40, 45 또는 50°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 도 7d와 관련하여 실시예 1에 기재된 DSF 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 45, 50 또는 55°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 4와 관련하여 실시예 1에 기재된 시차 주사 열량측정법 (DSC) 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 약 50 또는 60°C 초과인 T<sub>m</sub>을 갖는다.
- [1098] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 13과 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, pH 7.5에서 약 55, 58, 60, 62, 64 또는 66°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인 T<sub>m2</sub>; pH 5.8에서 약 55, 58, 60, 62 또는 64°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78, 80 또는 82°C 초과인 T<sub>m2</sub>; 또는 pH 4.5에서 55, 58 또는 60°C 초과인 T<sub>m1</sub> 및 약 75, 78 또는 80°C 초과인 T<sub>m2</sub>를 갖는다.
- [1099] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는, 예를 들어 표 14와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 pH 7.5 또는 pH 4.5

에서 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 을 갖거나; pH 5.8에서 약 50 또는 62°C 초과인  $T_m$ 을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ 을 갖는다.

- [1100] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)의 LFA3 도메인은, 예를 들어 표 15와 관련하여 실시예 4에 기재된 DSC 및 패브리케이터 IdeS 및/또는 방법을 사용하여 측정시, 예를 들어 약 50 또는 60°C 초과인  $T_m$ 을 갖는, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증가된  $T_m$ 을 갖는다.
- [1101] 본 발명은 CD2에 결합하고, 하기로부터 선택된 적어도 1개의 검출가능한 활성을 매개하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 개시한다: (a) CD2+ 세포, 예를 들어 CD2-발현 CD4  $T_{mem}$  세포 또는 CD2-발현CD8  $T_{mem}$  세포에 결합함, (b) CD2와 자연 발생 LFA3 사이의 상호작용을 감소시킴, (c) 예를 들어 NK 세포의 존재 하에, CD2-발현 세포, 예를 들어 CD2-발현 CD4  $T_{mem}$  세포 또는 CD2-발현 CD8  $T_{mem}$  세포에 대한 세포독성을 매개함, (d) CD4+ 및/또는 CD8+  $T_{EM}$  세포를 감소시킴, (e) 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/ $T_{EM}$  비를 증가시킴, (f) 예를 들어 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에서 Treg/ $T_{EM}$  비를 증가시킴, (g) 동종 T 세포 반응, 예를 들어 T 세포 증식 및 시토카인 생산을 억제함, 및 (h) 과상표 특소이드 회상 반응을 억제함.  $T_{mem}$  세포는, 예를 들어 중심 기억 ( $T_{CM}$ ) 및 이펙터 기억 ( $T_{EM}$ ) T 세포를 포함한다.
- [1102] 한 측면에서, 본 발명은 인간 또는 시노물구스 원숭이 CD2를 발현하는 세포에 높은 결합 친화도로 결합하지만 설치류 CD2를 발현하는 세포에는 결합하지 않는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 포함한다. 결합 친화도 결합을 유동 세포측정법을 사용하여 평가하여 표적 단백질 (예를 들어, CD2)을 발현하는 세포에 대한 결합을 검출할 수 있다. 세포는 CD2를 코딩하는 핵산으로 일시적으로 또는 안정적으로 형질감염될 수 있다. 대안적으로, 세포는 그의 표면 상에 CD2를 자연 발현하는 세포일 수 있다. CD2+ 세포의 공급원과 무관하게, 세포에 대한 LFA3 폴리펩티드 분자의 결합은 관련 기술분야에서 인지된 다양한 방법을 사용하여 용이하게 평가될 수 있다. LFA3 폴리펩티드 분자는 인간 또는 시노 CD2에 결합하지만, 설치류 CD2에는 검출가능하게 결합하지 않거나 훨씬 더 적은 정도로 결합한다.
- [1103] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 재조합 인간 CD2에, 예를 들어 실시예에 기재된 SPR에 의해 측정시, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu$ M 미만인 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 재조합 인간 CD2에 약 1.08  $\mu$ M의 친화도로 결합한다.
- [1104] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 재조합 시노물구스 CD2에, 예를 들어 실시예에 기재된 SPR에 의해 측정시, 1.4, 1.3, 1.2, 1.1 또는 1  $\mu$ M 미만인 친화도로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 재조합 시노물구스 CD2에 약 1.06  $\mu$ M의 친화도로 결합한다.
- [1105] 한 측면에서, CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{mem}$  세포에 100, 200, 300 또는 400 pM 이하인 Kd로 결합하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)가 본원에 개시된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{mem}$  세포에 약 94 pM의 Kd로 결합한다.
- [1106] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 300, 400, 500, 500, 700, 800, 1000, 1200 또는 1500 pM 이하인 계산된 IC50으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 1.18E-10 M의 계산된 IC50으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 307 pM의 평균 계산된 IC50으로 결합한다.
- [1107] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+  $T_{EM}$  세포에 약 150, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하인 계산된 IC50으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+  $T_{EM}$  세포에 약 150 pM의 계산된 IC50으로 결합한다.

- [1108] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>CM</sub> 세포에 약 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 또는 800 pM 이하인 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>CM</sub> 세포에 약 110 pM의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다.
- [1109] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000 또는 1200 pM 이하인 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 1.44E-10M의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 180 pM의 평균 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다.
- [1110] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 확장된 CD4 Treg 세포에 약 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하인 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 확장된 CD4 Treg 세포에 약 8.54E-11M의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 확장된 CD4 Treg 세포에 약 90 pM의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다.
- [1111] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 기억 T 세포에 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하인 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 기억 T 세포에 약 120 pM의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다.
- [1112] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1600 또는 1700 pM 이하인 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 9.49E-11M의 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 300 pM의 평균 계산된 IC<sub>50</sub>으로 결합한다.
- [1113] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하인 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 67 pM의 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 기억 T 세포에 약 94 pM의 평균 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다.
- [1114] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포에 약 100, 200, 300, 400, 500 또는 600 pM 이하인 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포에 약 79 pM의 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다.
- [1115] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>CM</sub> 세포에 약 100, 200, 300, 400 또는 500pM 이하인 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4+ T<sub>CM</sub> 세포에 약 64 pM의 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다.
- [1116] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 100, 200, 300 또는 400 pM 이하인 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 61 pM의 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD4 나이브 T 세포에 약 54 pM의 평균 계산된 K<sub>d</sub>로 결합한다.

- [1117] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 확장된 CD4 Treg 세포에 약 100, 200 또는 300 pM 이하인 계산된  $K_d$ 로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 확장된 CD4 Treg 세포에 약 58 pM의 계산된  $K_d$ 로 결합한다.
- [1118] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 기억 T 세포에 약 50, 100 또는 150 pM 이하인 계산된  $K_d$ 로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 기억 T 세포에 약 31 pM의 계산된  $K_d$ 로 결합한다.
- [1119] 한 측면에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 50, 100, 200, 300, 400 또는 500 pM 이하인 계산된  $K_d$ 로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 30 pM의 계산된  $K_d$ 로 결합한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD8 천연 T 세포에 약 98 pM의 계산된  $K_d$ 로 결합한다.
- [1120] 한 측면에서, 본 발명은 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 또는 1500 pM 이하인 EC50으로 매개하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 348 pM의 EC50으로 매개한다.
- [1121] 한 측면에서, 본 발명은 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD8  $T_{mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 1, 5, 10, 20, 30, 40 또는 50 nM 이하인 EC50으로 매개하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD8  $T_{mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 0.716 nM의 EC50으로 매개한다.
- [1122] 한 측면에서, 본 발명은 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{non-mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 1200, 1500, 1800, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000 pM 이하인 EC50으로 매개하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD4  $T_{non-mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 1256 pM의 EC50으로 매개한다.
- [1123] 한 측면에서, 본 발명은 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD8  $T_{non-mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 1, 5, 10, 20, 30, 40 또는 50 nM 이하인 EC50으로 매개하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 CD2-발현 세포, 예를 들어 CD8  $T_{non-mem}$  세포에 대한 세포독성을 약 0.787 nM의 EC50으로 매개한다.
- [1124] 본 발명은 CD2에 결합하고 면역 반응, 예를 들어 T 세포-매개 면역 반응을 억제하는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 포함한다. 면역 반응, 예를 들어 T 세포-매개 면역 반응의 억제를 결정하는 많은 검정이 관련 기술분야에 공지되어 있다. 하나의 이러한 검정은 실시예에 기재된 혼합 림프구 반응 (MLR) 검정이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 동종 반응을 약 400, 800, 1200, 1600, 2000 또는 2400pM 이하인 IC50으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 동종 반응을 약 302pM의 IC50으로 억제할 수 있다. 또 다른 검정은 실시예에 기재된 과상풍 독소이드 회상 반응 검정이다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 과상풍 독소이드 회상 반응 검정에서 CD4 기억 T 세포의 IFN  $\gamma$  생산을 약 5, 10, 15, 20 또는 25nM 이하인 IC50으로 억제할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 과상풍 독소이드 회상 반응 검정에서 CD4 기억 T 세포의 IFN  $\gamma$  생산을 약 1.342 nM의 IC50으로 억제할 수 있다.
- [1125] 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어 표 11과 관련하여 실시예 2에 기재된 방법을 사용하여 측정시, 0.14, 0.16,

0.18, 0.2 또는 0.22 mL/hr/kg 이하인 중심으로부터의 클리어런스를 나타내는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 약 0.11 mL/hr/kg인 중심으로부터의 클리어런스를 나타낸다.

- [1126] 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어 모세관 겔 전기영동을 사용하여 측정시, 순도가 적어도 약 98% 또는 99%인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 증진된 순도를 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 약 99% 순수하다.
- [1127] 한 측면에서, 본 발명은, 예를 들어 모세관 겔 전기영동을 사용하여 측정시, 순도가 약 20, 18, 16, 14, 12, 10, 9, 8 또는 7 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드 이하인, 서열식별번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드 분자에 비해 감소된 시알산 변형을 나타내는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 제공한다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 약 14 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)는 약 9 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드를 포함한다.
- [1128] 본 발명은 상기 논의된 생물학적 활성 중 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과, 예를 들어 모두를 나타내는 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어, 변이체 LFA3 융합 폴리펩티드 분자)를 포괄한다.
- [1129] III. LFA3 폴리펩티드 분자 발현 및 생산
- [1130] LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 핵산
- [1131] 본 발명은 또한 본원에 기재된 임의의 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 또한 본원에 기재된 임의의 폴리뉴클레오티드를 제조하는 방법을 제공한다. 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 공지된 절차에 의해 제조 및 발현될 수 있다.
- [1132] 목적하는 폴리펩티드 분자 및 이러한 폴리펩티드 분자를 코딩하는 핵산 또는 그의 부분의 서열은 표준 서열분석 기술을 사용하여 결정될 수 있다. 목적하는 폴리펩티드 분자를 코딩하는 핵산 서열은 재조합 생산 및 특징화를 위해 다양한 벡터 (예컨대 클로닝 및 발현 벡터) 내로 삽입될 수 있다.
- [1133] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 하기 폴리펩티드 중 임의의 것을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다: 인간 LFA3 이소형 1, 인간 LFA3 이소형 1 도메인 1, LFA3-Fc WT, LFA3-Pfe WT, 인간 IgG2 Fc, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7, d1, d3, M1d1, M1d3, M4d1, M7d1, CM1d1, CM2d1, CM3d1, CM4d1, CM5d1, CM6d1, ML1d1, ML2d1, ML3d1, ML4d1, ML5d1, ML6d1 및 LFA3-Fc M1d1. 일부 실시양태에서, 상기 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 본원에 개시된 폴리펩티드 분자의 아미노산 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한, 보다 바람직하게는 그와 동일한 아미노산 서열을 코딩한다.
- [1134] 본 발명은 서열식별번호: 15-41, 69, 120 및 128로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 1종 이상의 단백질을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 실시양태에서, 아미노산 서열을 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 26 또는 서열식별번호: 16 및 69의 아미노산 서열에 대해 적어도 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한, 보다 바람직하게는 그와 동일한 아미노산 서열을 코딩한다.
- [1135] 본 발명은 서열식별번호: 42-68 및 122-127로 이루어진 군으로부터 선택된 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 53에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 122에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 123에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 43 및 53에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [1136] 본 발명은 서열식별번호: 42-68 및 122-127로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 핵산 분자를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 44에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 53에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 122에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 123에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 43에 제시된 바와 같은 핵

산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다. 본 발명은 서열식별번호: 43 및 53에 제시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 세포를 제공한다.

[1137] 또 다른 측면에서, 본 발명은 LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 그의 변이체를 제공하며, 여기서 이러한 변이체 폴리뉴클레오티드는 본원에 개시된 임의의 특정 핵산 서열에 대해 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 87%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 공유한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 그의 변이체를 제공하며, 여기서 이러한 변이체 폴리뉴클레오티드는 서열식별번호: 123 또는 서열식별번호: 43 및 53에 대해 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 87%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 공유한다. 이들 양은 제한적인 것으로 의도되지 않고, 인용된 백분율들 사이의 증분은 본 개시내용의 일부로서 구체적으로 고려된다.

[1138] 본 발명은 본원에 기재된 핵산 분자에 의해 코딩되는 폴리펩티드를 제공한다.

[1139] 임의의 이러한 서열에 상보적인 폴리뉴클레오티드는 또한 본 개시내용에 의해 포괄된다. 폴리뉴클레오티드는 단일 가닥 (코딩 또는 안티센스) 또는 이중 가닥일 수 있고, DNA (게놈, cDNA 또는 합성) 또는 RNA 분자일 수 있다. RNA 분자는, 인트론을 함유하고 일대일 방식으로 DNA 분자에 상응하는 HnRNA 분자, 및 인트론을 함유하지 않는 mRNA 분자를 포함한다. 추가의 코딩 또는 비-코딩 서열이 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 내에 존재할 수 있지만, 그러한 필요는 없고, 폴리뉴클레오티드가 다른 분자 및/또는 지지 물질에 연결되어 있을 수 있지만, 그러한 필요는 없다.

[1140] 폴리뉴클레오티드는 천연 서열 (즉, 폴리펩티드 분자를 코딩하는 내인성 서열)을 포함할 수 있거나 또는 이러한 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩된 폴리펩티드의 면역반응성이 천연 면역반응성 분자와 비교하여 감소되지 않도록 하는 1개 이상의 치환, 부가, 결실 및/또는 삽입을 함유한다. 코딩된 폴리펩티드의 면역반응성에 대한 효과는 일반적으로 본원에 기재된 바와 같이 평가될 수 있다. 일부 실시양태에서, 변이체는 천연 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 약 70% 동일성을 나타내고, 일부 실시양태에서는 적어도 약 80% 동일성, 일부 실시양태에서는 적어도 약 90% 동일성 및 일부 실시양태에서는 적어도 약 95% 동일성을 나타낸다. 이들 양은 제한적인 것으로 의도되지 않고, 인용된 백분율들 사이의 증분은 본 개시내용의 일부로서 구체적으로 고려된다.

[1141] 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열은, 2개의 서열 내 뉴클레오티드 또는 아미노산의 서열이 하기 기재된 바와 같이 최대한 상응하게 정렬되었을 때 동일한 경우에 "동일"하다고 언급된다. 전형적으로, 2개의 서열 사이의 비교는 비교 윈도우에 걸쳐 서열을 비교하여 서열 유사성의 국부 영역을 확인하고 비교함으로써 수행된다. 본원에 사용된 "비교 윈도우"는 적어도 약 20개의 인접 위치, 통상적으로는 30개 내지 약 75개, 또는 40개 내지 약 50개의 인접 위치의 절편을 지칭하며, 여기서 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 동일한 수의 인접 위치의 참조 서열과 비교될 수 있다.

[1142] 비교를 위한 서열의 최적 정렬은, 디폴트 파라미터를 사용하여 생물정보학 소프트웨어의 레이저진(Lasergene)® 스위트 내의 메그얼라인(MegAlign)® 프로그램 (디엔에이스타®, 인크.(DNASTAR®, Inc.), 위스콘신주 매디슨)을 이용하여 수행될 수 있다. 이러한 프로그램은 하기 참고문헌에 기재된 여러 정렬식을 구현한다: 문헌 [Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. In Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis pp. 626-645 Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. and Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153; Myers, E.W. and Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. and Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730].

[1143] 일부 실시양태에서, "서열 동일성의 백분율"은 적어도 20개 위치의 비교 윈도우에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정되며, 여기서 비교 윈도우 내의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 부분은 2개 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (부가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 20 퍼센트 이하, 통상적으로

5 내지 15 퍼센트, 또는 10 내지 12 퍼센트의 부가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수 있다. 백분율은 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 둘 다의 서열에서 발생한 위치의 수를 결정하여 매칭되는 위치의 수를 산출하고, 매칭되는 위치의 수를 참조 서열 내의 위치의 총수 (즉, 윈도우 크기)로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다.

- [1144] 변이체는 또한 또는 대안적으로, 천연 유전자, 또는 그의 일부분 또는 상보체와 실질적으로 상동일 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오티드 변이체는 중간 정도의 엄격한 조건 하에 천연 폴리펩티드 분자를 코딩하는 자연 발생 DNA 서열 (또는 상보적인 서열)에 혼성화될 수 있다.
- [1145] 적합한 "중간 정도의 엄격한 조건"은 5X SSC, 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0)의 용액 중에서 사전세척하고; 50°C-65°C, 5X SSC에서 밤새 혼성화시킨 후; 0.1% SDS를 함유하는 각각 2X, 0.5X 및 0.2X SSC로 65°C에서 20분 동안 2회 세척하는 것을 포함한다.
- [1146] 본원에 사용된 "고도의 엄격한 조건" 또는 "고 엄격도 조건"은 (1) 세척 동안 낮은 이온 강도 및 높은 온도, 예를 들어 50°C에서 0.015 M 염화나트륨/0.0015 M 시트르산나트륨/0.1% 소듐 도데실 술페이트를 사용하거나; (2) 혼성화 동안 42°C에서 변성제, 예컨대 포름아미드, 예를 들어 0.1% 소 혈청 알부민/0.1% 피콜/0.1% 폴리비닐피롤리돈/750 mM 염화나트륨, 75 mM 시트르산나트륨을 함유하는 50 mM 인산나트륨 완충제 (pH 6.5)를 함유하는 50% (v/v) 포름아미드를 사용하거나; 또는 (3) 42°C에서 50% 포름아미드, 5X SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5X 덴하르트 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50 µg/mL), 0.1% SDS 및 10% 덱스트란 술페이트를 사용하고, 42°C에서 0.2X SSC (염화나트륨/시트르산나트륨) 및 55°C에서 50% 포름아미드 중에서 세척한 다음, 55°C에서 EDTA를 함유하는 0.1X SSC로 이루어진 고 엄격도 세척을 수행하는 것이다. 통상의 기술자는 프로브 길이 등과 같은 인자를 수용하기 위해 필요한 경우 온도, 이온 강도 등을 조정하는 방법을 인지할 것이다.
- [1147] 유전자 코드의 축중성으로 인해 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드를 코딩하는 많은 뉴클레오티드 서열이 존재한다는 것을 관련 기술분야의 통상의 기술자는 인지할 것이다. 이들 폴리뉴클레오티드 중 일부는 임의의 천연 유전자의 뉴클레오티드 서열에 대해 최소 상동성을 보유한다. 그럼에도 불구하고, 코돈 용법에서의 차이로 인해 달라지는 폴리뉴클레오티드가 본 개시내용에서 구체적으로 고려된다. 추가로, 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 유전자의 대립유전자가 본 개시내용의 범주 내에 속한다. 대립유전자는 뉴클레오티드의 1개 이상의 돌연변이, 예컨대 결실, 부가 및/또는 치환으로 인해 변경된 내인성 유전자이다. 생성된 mRNA 및 단백질은 변경된 구조 또는 기능을 가질 수 있지만, 반드시 그러할 필요는 없다. 대립유전자는 표준 기술 (예컨대 혼성화, 증폭 및/또는 데이터베이스 서열 비교)을 사용하여 확인될 수 있다.
- [1148] 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드는 화학적 합성, 재조합 방법 또는 PCR을 사용하여 수득될 수 있다. 화학적 폴리뉴클레오티드 합성 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며, 본원에 상세히 기재될 필요는 없다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 제공된 서열 및 상업적 DNA 합성기를 사용하여 목적하는 DNA 서열을 생산할 수 있다.
- [1149] 재조합 방법을 사용하여 폴리뉴클레오티드를 제조하는 경우에, 본원에 추가로 논의된 바와 같이, 목적하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드가 적합한 벡터 내로 삽입될 수 있고, 이어서 벡터가 복제 및 증폭에 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 공지된 임의의 수단에 의해 숙주 세포 내로 삽입될 수 있다. 직접 흡수, 세포내이입, 형질감염, F-교배 또는 전기천공에 의해 외인성 폴리뉴클레오티드를 도입하는 것에 의해 세포가 형질전환된다. 도입되면, 외인성 폴리뉴클레오티드는 세포 내에서 비-통합 벡터 (예컨대 플라스미드)로서 유지될 수 있거나 또는 숙주 세포 게놈 내로 통합될 수 있다. 이와 같이 증폭된 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 숙주 세포로부터 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., 1989]을 참조한다.
- [1150] 대안적으로, PCR은 DNA 서열의 재생산을 가능하게 한다. PCR 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 미국 특허 번호 4,683,195, 4,800,159, 4,754,065 및 4,683,202, 뿐만 아니라 문헌 [PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkauser Press, Boston, 1994]에 기재되어 있다.
- [1151] RNA는 적절한 벡터 내의 단리된 DNA를 사용하여 이를 적합한 숙주 세포 내로 삽입함으로써 수득될 수 있다. 세포가 복제되고 DNA가 RNA로 전사되면, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., 1989]에 제시된 바와 같은, 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 RNA를 단리할 수 있다.
- [1152] 일부 실시양태에서, 제1 벡터는 LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 M1d1을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하고, 제

2 백터는, 예를 들어 IgG1로부터의 중쇄 Fc 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 백터 및 제2 백터는 유사한 양 (예컨대 유사한 몰량 또는 유사한 질량)으로 숙주 세포 내로 형질감염된다. 일부 실시양태에서, 5:1 내지 1:5의 몰비 또는 질량비의 제1 백터 및 제2 백터가 숙주 세포 내로 형질감염된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 M1d1을 코딩하는 백터 및 예를 들어 IgG1로부터의 중쇄 Fc 도메인을 코딩하는 백터에 대해 1:1 내지 1:5의 질량비가 사용된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 M1d1을 코딩하는 백터 및 예를 들어 IgG1로부터의 중쇄 Fc를 코딩하는 백터에 대해 1:2의 질량비가 사용된다.

- [1153] 백터
- [1154] 일부 실시양태에서, CHO 또는 CHO-유래 세포, 또는 NSO 세포에서의 폴리펩티드의 발현에 최적화된 백터가 선택된다. 예시적인 이러한 백터는, 예를 들어 문헌 [Running Deer et al., *Biotechnol. Prog.* 20:880-889 (2004)]에 기재되어 있다.
- [1155] 적합한 클로닝 및 발현 백터는 다양한 성분, 예컨대 프로모터, 인핸서 및 다른 전사 조절 서열을 포함할 수 있다. 백터는 또한 상이한 백터 내로의 항체 가변 도메인의 후속 클로닝을 가능하게 하도록 구축될 수 있다. 적합한 클로닝 백터는 표준 기술에 따라 구축될 수 있거나, 또는 관련 기술분야에서 입수가 가능한 다수의 클로닝 백터로부터 선택될 수 있다. 선택된 클로닝 백터는 사용하고자 의도되는 숙주 세포에 따라 달라질 수 있지만, 유용한 클로닝 백터는 일반적으로 자기-복제 능력을 가질 것이고/거나 특정한 제한 엔도뉴클레아제에 대한 단일 표적을 보유할 수 있고/거나 백터를 함유하는 클론을 선택하는데 사용될 수 있는 마커에 대한 유전자를 보유할 수 있다. 적합한 예는 플라스미드 및 박테리아 바이러스, 예를 들어 pUC18, pUC19, 블루스크립트 (예를 들어, pBS SK+) 및 그의 유도체, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파지 DNA, 및 서틀 백터, 예컨대 pSA3 및 pAT28을 포함한다. 이들 및 많은 다른 클로닝 백터는 상업적 판매업체, 예컨대 바이오라드(BioRad), 스트라테진(Stratagene) 및 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수가 가능하다. 발현 백터가 추가로 제공된다. 발현 백터는 일반적으로 본 개시내용에 따른 폴리뉴클레오티드를 함유하는 복제가능한 폴리뉴클레오티드 구축물이다. 이는 발현 백터가 숙주 세포에서 에피솜으로서 또는 염색체 DNA의 통합 부분으로서 복제가능하여야 한다는 것을 의미한다. 적합한 발현 백터는 플라스미드, 바이러스 백터, 예컨대 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 레트로바이러스, 코스미드, 및 PCT 공개 번호 WO 87/04462에 개시된 발현 백터(들)를 포함하나 이에 제한되지 않는다는 점이다. 백터 성분은 일반적으로 하기 중 1종 이상을 포함할 수 있으나 이에 제한되지 않는다는 점이다: 신호 서열; 복제 기점; 1종 이상의 마커 유전자; 적합한 전사 제어 요소 (예컨대 프로모터, 인핸서 및 종결인자). 발현 (즉, 번역)을 위해서는, 통상적으로 1종 이상의 번역 제어 요소, 예컨대 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위 및 정지 코돈이 또한 요구된다.
- [1156] 관심 폴리뉴클레오티드를 함유하는 백터 및/또는 폴리뉴클레오티드 그 자체는 전기천공; 염화칼슘, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-덱스트란 또는 다른 물질을 사용한 형질감염; 미세발사체 충격; 리포펙션; 및 감염 (예를 들어, 백터가 감염원, 예컨대 백시니아 바이러스인 경우)을 포함한, 다수의 적절한 수단 중 임의의 것에 의해 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 도입 백터 또는 폴리뉴클레오티드의 선택은 종종 숙주 세포의 특색에 좌우될 것이다.
- [1157] 숙주 세포
- [1158] LFA3 폴리펩티드 분자는 적합한 숙주 세포를 사용하여 재조합적으로 제조될 수 있다. LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 핵산을 발현 백터 내로 클로닝할 수 있고, 이를 이어서 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이(*E. coli*) 세포, 효모 세포, 곤충 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 달리 이뮤노글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포 내로 도입하여, 재조합 숙주 세포에서 LFA3 폴리펩티드 분자의 합성을 얻을 수 있다. 바람직한 숙주 세포는 관련 기술분야에 널리 공지된 많은 세포 중, CHO 세포, 인간 배아 신장 HEK-293 세포, 또는 Sp2.0 세포를 포함한다. 단백질 및 펩티드에 대한 화학적 합성 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고 상업적으로 입수가 가능하다.
- [1159] 다양한 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자가 원핵 세포, 예컨대 박테리아 세포; 또는 진핵 세포, 예컨대 진균 세포 (예컨대 효모), 식물 세포, 곤충 세포 및 포유동물 세포에서 발현될 수 있다. 이러한 발현은, 예를 들어 관련 기술분야에 공지된 절차에 따라 수행될 수 있다. 폴리펩티드를 발현시키는데 사용될 수 있는 예시적인 진핵 세포는 COS 7 세포를 포함한 COS 세포; 293-6E 및 Expi293 세포를 포함한 293 세포; CHO-S, DG44, Lec13 CHO 세포, ExpiCHO 및 FUT8 CHO 세포를 포함한 CHO 세포; PER.C6® 세포 (크루셀); 및 NSO 세포를 포함하나 이에 제한되지 않는다는 점이다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자는 효모에서 발현될 수 있다. 예를 들어, 미국 공개 번호 US 2006/0270045 A1을 참조한다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자에 목적하는 번역후

변형을 만드는 능력에 기초하여 특정한 진행 숙주 세포가 선택된다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, CHO 세포는 293 세포에서 생산된 동일한 폴리펩티드보다 더 높은 수준의 시알릴화를 갖는 폴리펩티드를 생산한다.

- [1160] 1개 이상의 핵산을 목적하는 숙주 세포 내로 도입하는 것은 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란 매개 형질감염, 양이온성 지질-매개 형질감염, 전기천공, 형질도입, 감염 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는 임의의 방법에 의해 달성될 수 있다. 비제한적 예시적인 방법은, 예를 들어 문헌 [Sambrook et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)]에 기재되어 있다. 핵산은 임의의 적합한 방법에 따라 목적하는 숙주 세포에 일시적으로 또는 안정하게 형질감염될 수 있다.
- [1161] LFA3 폴리펩티드 분자는 임의의 적합한 방법에 의해 정제될 수 있다. 이러한 방법은 친화성 매트릭스 또는 소수성 상호작용 크로마토그래피, 예를 들어 단백질 A, 단백질 G 또는 단백질 A/G의 사용을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 소수성 상호작용 크로마토그래피, 예를 들어 부틸 또는 페닐 칼럼이 또한 일부 폴리펩티드를 정제하는데 적합할 수 있다. 많은 폴리펩티드 정제 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다.
- [1162] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드 분자는 무세포 시스템에서 생산된다. 비제한적 예시적인 무세포 시스템은, 예를 들어 문헌 [Sitaraman et al., *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44 (2009); Spirin, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45 (2004); Endo et al., *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713 (2003)]에 기재되어 있다.
- [1163] IV. 용도 및 의료 요법
- [1164] 일부 측면에서, 본 발명은 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 제약 조성물의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, LFA3 폴리펩티드 분자를 사용하는 치료 방법을 제공한다.
- [1165] 적용가능한 질환, 장애 또는 상태는 제1형 당뇨병, 건선, 판상 건선, 수장족저 농포증, 손발바닥의 농포성 건선, 수장족저의 농포증, 손발바닥의 농포증, 아토피성 피부염, 편평 태선, 이식편-대-숙주 질환 (GVHD), 백반증, 모공성 홍색 비강진, 이식 (예를 들어, 기관 이식, 예를 들어 신장 이식), 건선성 관절염, 동종 조혈 줄기 세포 이식이 요구되는 질환, 장애 또는 상태, 지중해빈혈, 겸상 적혈구 질환, 글라즈만 혈소판무력증, 비스코트-알드리치 증후군, 만성-육아종성 질환, 중증 선천성 호중구감소증, 백혈구 부착 결핍, 슈마크만-다이아몬드 증후군, 다이아몬드-블랙판 빈혈, 판코니 빈혈, 선천성 이상각화증, 체디악-히가시 증후군, 재생불량성 빈혈, 원형 탈모증, 및 T 세포 림프종 (예를 들어, 피부 T-세포 림프종 또는 말초 T-세포 비-호지킨 림프종)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [1166] 추가의 질환, 장애 또는 상태는 당뇨병 (예를 들어 제I형 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병); 소아 발병 당뇨병; 염증 반응, 예컨대 건선 및 피부염 (예를 들어 아토피성 피부염)을 포함한 염증성 피부 질환; 피부근염; 전신 경피증 및 경화증; 염증성 장 질환과 연관된 반응 (예컨대 크론병 및 궤양성 결장염); 호흡 곤란 증후군 (성인 호흡 곤란 증후군; ARDS 포함); 피부염; 수막염; 뇌염; 포도막염; 결장염; 위염; 사구체신염; 알레르기성 상태, 예컨대 습진 및 천식 및 T 세포의 침윤을 수반하는 다른 상태 및 만성 염증 반응; 아테롬성동맥경화증; 백혈구 부착 결핍; 류마티스 관절염; 전신 홍반성 루푸스 (SLE); 다발성 경화증; 레이노 증후군; 자가면역 갑상선염; 알레르기성 뇌척수염; 쇼그렌 증후군; 및 결핵, 사르코이드증, 다발근염, 육아종증 및 혈관염에서 전형적으로 발견되는 시토카인 및 T-림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연형 과민성과 연관된 면역 반응; 베게너병; 악성 빈혈 (애디슨병); 백혈구 누출을 수반하는 질환; 중추 신경계 (CNS) 염증성 장애; 다발성 기관 손상 증후군; 용혈성 빈혈 (한랭글로불린혈증 또는 쿨스 양성 빈혈을 포함하나 이에 제한되지는 않음); 중증 근무력증; 항원-항체 복합체 매개 질환; 항-사구체 기저막 질환; 항인지질 증후군; 알레르기성 신경염; 그레이브스병; 램버트-이튼 근무력 증후군; 수포성 유천포창; 천포창; 자가면역 다발내분비병증; 백반증; 라이터병; 강직-인간 증후군; 베체트병; 거대 세포 동맥염; 면역 복합체 신염; IgA 신병증; IgM 다발신경병증; 면역 혈소판감소성 자반증 (ITP) 또는 자가면역 혈소판감소증 및 자가면역 용혈성 질환; 하시모토 갑상선염; 자가면역 간염; 자가면역 혈우병; 자가면역 림프증식성 증후군 (ALPS); 자가면역 포도막망막염; 길랑-바레 증후군; 굿패스처 증후군; 혼합 결합 조직 질환; 자가면역-연관 불임; 결절성 다발동맥염; 원형 탈모증; 특발성 점액수종; 이식편 대 숙주 질환; 근육 이영양증 (뒤시엔느, 베커, 근긴장성, 지대, 안면견갑상완, 선천성, 안인두, 원위, 에머리-드레이푸스); 및 염증성 비-면역 질환, 예컨대 심장 질환 또는 뇌 질환을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [1167] 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 또한, 예를 들어 진단 목적을 위해 샘플 중 CD2 또는 CD2-발현 세포를 검출 및/또는 측정하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, LFA3 폴리펩티드 분자는 CD2의 이상 발현 (예를 들어, 과다발현, 과소발현, 발현의 결여 등)을 특징으로 하는 상태 또는 질환을 진단하는데 사용될 수 있다. CD2에 대한 예시적인 진단 검정은 환자로부터 획득된 샘플을 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자와 접촉시키는 것을 포함할 수

있으며, 여기서 LFA3 폴리펩티드 분자는 검출가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지된다.

- [1168] 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체" 또는 "제약상 허용되는 부형제"는 활성 성분과 조합되는 경우에 성분이 생물학적 활성을 유지하도록 하고 대상체의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 예는 임의의 표준 제약 담체, 예컨대 포스페이트 완충 염수 용액, HEPES (4-(2-히드록시에틸)-1-피페라진에탄술포산) 완충 염수, 물, 에멀전, 예컨대 오일/물 에멀전, 및 다양한 유형의 습윤제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 에어로졸 또는 비경구 투여에 바람직한 희석제는 포스페이트 완충 염수 (PBS) 또는 생리 (0.9%) 염수이다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지된 통상적인 방법에 의해 제제화된다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 및 Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Mack Publishing, 2000] 참조).
- [1169] V. 조성물
- [1170] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 LFA3 폴리펩티드 분자의 유효량을 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 이러한 조성물의 예뿐만 아니라 제제화 방법이 또한 본원에 기재된다. 일부 실시양태에서, 조성물은 1개 이상의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함한다.
- [1171] 본 개시내용에 사용된 조성물은 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제를 추가로 포함할 수 있다 (Remington: The Science and practice of Pharmacy 20th Ed., 2000, Lippincott Williams 및 Wilkins, Ed. K. E. Hoover). 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, HEPES 및 다른 유기 산을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1을 포함하는 조성물은 HEPES-완충 염수를 포함한다. 일부 실시양태에서, HEPES 완충제의 농도는 약 10 mM, 약 20 mM, 약 30 mM, 약 40 mM, 약 50 mM, 약 60 mM, 약 70 mM, 약 80 mM, 약 90 mM, 약 100 mM이다. 일부 실시양태에서, HEPES 완충제의 농도는 20 mM이다. 추가의 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 항산화제, 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 핵사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트란; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)<sup>TM</sup>, 플루로닉스(PLURONICS)<sup>TM</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다. 제약상 허용되는 부형제는 본원에 추가로 기재된다.
- [1172] LFA3 폴리펩티드 분자 및 그의 조성물은 또한 작용제의 유효성을 증진 및/또는 보충하는 역할을 하는 다른 작용제와 함께 사용될 수 있다.
- [1173] 본 개시내용은 또한 본 개시내용의 임의의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물, 예컨대 제약 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 기재된 바와 같은 LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 다른 실시양태에서, 조성물은 본원에 기재된 임의의 LFA3 폴리펩티드 분자를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다.
- [1174] 본 개시내용의 제약 조성물은 또한 조합 요법으로, 예컨대 다른 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 조합 요법은 적어도 1종의 다른 요법과 조합된 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함할 수 있으며, 여기서 요법은 수술, 면역요법 또는 약물 요법일 수 있다.
- [1175] 본 개시내용의 제약 화합물은 1종 이상의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다. 이러한 염의 예는 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 산 부가염은 비독성 무기 산, 예컨대 염산, 질산, 인산, 황산, 브로민화수소산, 아이오딘화수소산, 아인산 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 산, 예컨대 지방족 모노- 및 디카르복실산, 페닐-치환된 알칸산, 히드록시 알칸산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 술폰산 등으로부터 유래된 것을 포함한다. 염기 부가염은 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유래된 것을 포함한다.
- [1176] 본 개시내용의 제약 조성물은 또한 제약상 허용되는 항산화제를 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 항산화제의

예는 다음을 포함한다: (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시 아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등.

- [1177] 본 개시내용의 제약 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비-수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트를 포함한다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅 물질, 예컨대 레시틴을 사용함으로써, 분산액의 경우에는 필요한 입자 크기를 유지시킴으로써, 및 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다.
- [1178] 이들 조성물은 또한 아주반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물의 존재의 방지는 멸균 절차, 및 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등을 포함시키는 것 둘 다에 의해 보장될 수 있다. 등장화제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물 내로 포함시키는 것이 또한 바람직할 수 있다. 또한, 주사가능한 제약 형태의 지속 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시키는 것에 의해 이루어질 수 있다.
- [1179] 제약 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건 하에 멸균되고 안정해야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에멀전, 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 규칙적 구조로서 제제화될 수 있다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅 물질, 예컨대 레시틴을 사용함으로써, 분산액의 경우에는 필요한 입자 크기를 유지시킴으로써, 및 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다. 많은 경우에, 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨 또는 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 적합할 것이다. 주사가능한 조성물의 지속 흡수는 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 달성될 수 있다.
- [1180] 멸균 주사가능한 용액은 적절한 용매 중의 필요한 양의 활성 화합물을 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 1종 또는 그의 조합과 함께 혼합시킨 후 멸균 마이크로여과함으로써 제조될 수 있다.
- [1181] 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 염기성 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼합시킴으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분의 분말 플러스 그의 이전의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 목적하는 성분을 생성하는 진공 건조 및 동결-건조 (동결건조)이다.
- [1182] 본 개시내용의 제약 조성물은 안과적 투여에 적합한 제제로 제조, 패키징 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는, 예를 들어 수성 또는 유성 액체 담체 중 활성 성분의 0.1%-1.0% (w/w) 용액 또는 현탁액을 포함한, 예를 들어 점안제의 형태일 수 있다. 이러한 점안제는 완충제, 염, 또는 본원에 기재된 1종 이상의 다른 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 유용한 다른 안과적으로 투여가능한 제제는 미세결정질 형태 또는 리포솜 제제로 활성 성분을 포함하는 것을 포함한다.
- [1183] 본원에 사용된 "추가 성분"은 부형제; 표면 활성제; 분산제; 불활성 희석제; 과립화제 및 봉해제; 결합제; 윤활제; 감미제; 향미제; 착색제; 보존제; 생리학상 분해가능한 조성물, 예컨대 젤라틴; 수성 비히클 및 용매; 유성 비히클 및 용매; 현탁화제; 분산제 또는 습윤제; 유화제, 완화제; 완충제; 염; 증점제; 충전제; 유화제; 항산화제; 항생제; 항진균제; 안정화제; 및 제약상 허용되는 중합성 또는 소수성 물질 중 1종 이상을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 개시내용의 제약 조성물에 포함될 수 있는 다른 "추가 성분"은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Genaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1985)] (이는 본원에 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.
- [1184] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 피하 주사를 위해 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 근육내 주사를 위해 제제화될 수 있다.
- [1185] 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 0.01 - 2.0 mg/mL의 농도로 제제화된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 0.01, 약 0.02, 약 0.05, 약 0.1, 약 0.2, 약 0.3, 약 0.4, 약 0.5, 약 0.6, 약 0.7, 약 0.8, 약 0.9, 약 1.0, 약 1.2, 약 1.5, 약 1.8 또는 약 2.0 mg/mL의 농도로 제제화된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 0.015 mg/mL의 농도로 제제화된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 0.15 mg/mL의 농도

로 제제화된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 1.5 mg/mL의 농도로 제제화된다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1은 약 10, 약 20, 약 30, 약 40 또는 약 50 mg/mL의 농도로 제제화된다.

- [1186] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 주사당 약 0.2-8 mg (예를 들어, 주사당 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5 또는 8 mg), 예를 들어 주사당 0.22-7.5 mg의 용량으로 제제화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자는 주사당 약 0.5-1.5 ml 용액 (예를 들어, 주사당 0.5, 1 또는 1.5 ml 용액), 예를 들어 주사당 약 1 ml 용액으로 제제화될 수 있다.
- [1187] 본원에 기재된 제약 조성물의 제제는 약리학 기술분야에 공지되어 있거나 이후에 개발될 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 정제용 방법은 활성 성분을 담체 또는 1종 이상의 다른 보조 성분과 회합시키는 단계, 및 이어서, 필요한 경우 또는 바람직한 경우에, 생성물을 목적하는 단일- 또는 다중-용량 단위로 성형 또는 패키징하는 단계를 포함한다.
- [1188] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 조성물은 내독소 및/또는 관련 발열성 물질이 실질적으로 없는 발열원-무함유 제제이다. 내독소는 미생물 내부에 한정되고 미생물이 붕괴되거나 사멸되는 경우에 방출되는 독소를 포함한다. 발열성 물질은 또한, 박테리아 및 다른 미생물의 외막으로부터의 열-유도성, 열안정성 물질 (당단백질)을 포함한다. 이들 물질 둘 다는 인간에게 투여되는 경우에 열, 저혈압 및 쇼크를 유발할 수 있다. 잠재적으로 유해한 효과로 인해, 정맥내로 투여되는 제약 약물 용액으로부터 심지어 적은 양의 내독소도 제거하는 것이 유리하다. 미국 식품 의약품국 ("FDA")은 정맥내 약물 적용을 위한 단일 1시간 기간 내에 체중 킬로그램당 용량당 5 내독소 단위 (EU)의 상한치를 설정하였다 (The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000)). 치료 단백질을 체중 킬로그램당 수백 또는 수천 밀리그램의 양으로 투여하는 경우에, 심지어 미량의 내독소도 제거하는 것이 유리하다. 한 실시양태에서, 조성물 중의 내독소 및 발열원 수준은 10 EU/mg 미만, 또는 5 EU/mg 미만, 또는 1 EU/mg 미만, 또는 0.1 EU/mg 미만, 또는 0.01 EU/mg 미만, 또는 0.001 EU/mg 미만이다. 또 다른 실시양태에서, 조성물 중의 내독소 및 발열원 수준은 약 10 EU/mg 미만, 또는 약 5 EU/mg 미만, 또는 약 1 EU/mg 미만, 또는 약 0.1 EU/mg 미만, 또는 약 0.01 EU/mg 미만, 또는 약 0.001 EU/mg 미만이다.
- [1189] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 조성물을 투여하는 것을 포함하며, 여기서 상기 투여는 경구, 비경구, 근육내, 비강내, 질, 직장, 설측, 설하, 협측, 협부내, 정맥내, 피부, 피하 또는 경피이다. 일부 실시양태에서, LFA3 폴리펩티드, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1을 포함하는 조성물은 정맥내로 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 조성물을 다른 요법, 예컨대 수술, 화학요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법, 면역요법 또는 방사선 요법과 조합하여 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 다른 요법은 조혈 줄기 세포 이식, 예를 들어 동종 조혈 줄기 세포 이식이다.
- [1190] VI. 투약/투여
- [1191] 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 제약 또는 멸균 조성물을 제조하기 위해, LFA3 폴리펩티드 분자는 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 혼합된다. 치료제 및 진단제 제제는, 예를 들어 동결건조 분말, 슬러리, 수용액, 로션 또는 현탁액의 형태로 생리학상 허용되는 담체, 부형제, 또는 안정화제와 혼합함으로써 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N. Y.; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.] 참조).
- [1192] 치료제에 대한 투여 요법을 선택하는 것은 엔티티의 혈청 또는 조직 전환율, 증상 수준, 엔티티의 면역원성 및 생물학적 매트릭스에서의 표적 세포의 접근성을 포함한 여러 인자에 좌우된다. 특정 실시양태에서, 투여 요법은 허용되는 부작용 수준과 일치하여 환자에게 전달되는 치료제의 양을 최대화한다. 따라서, 전달되는 생물제제의 양은 부분적으로 특정한 엔티티 및 치료될 상태의 중증도에 좌우된다. 항체, 시토키인, 및 소분자의 적절한 용량을 선택하는 것에 대한 지침은 입수가능하다 (예를 들어, 문헌 [Wawrzynczak, 1996, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.), 1991, Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y.; Bach (ed.), 1993, Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy

in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N. Y.; Baert, et al., 2003, New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgrom, et al., 1999, New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamon, et al., 2001, New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitz, et al., 2000, New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghosh, et al., 2003, New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipsky, et al., 2000, New Engl. J. Med. 343:1594-1602] 참조).

- [1193] 적절한 용량을 결정하는 것은, 예를 들어 치료에 영향을 미치는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있거나 그러한 것으로 의심되거나 또는 치료에 영향을 미칠 것으로 예측되는 파라미터 또는 인자를 사용하여 임상상에 의해 이루어진다. 일반적으로, 용량은 최적 용량보다 다소 더 적은 양에서 시작하며, 그 후 임의의 부정적 부작용에 비해 목적하거나 최적의 효과가 달성될 때까지 소량 증분으로 증가된다. 중요한 진단 척도는, 예를 들어 생산된 염증성 시토카인의 증상, 예를 들어 염증 또는 그의 수준의 척도를 포함한다.
- [1194] 본 개시내용의 제약 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이지 않으면서, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용된 본 개시내용의 특정한 조성물 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용된 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용된 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료될 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 기술분야에 널리 공지되어 있는 기타 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 좌우될 것이다.
- [1195] 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 조성물은 1주 2회, 1주 1회, 2주마다 1회 또는 3주마다 1회 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 1주 1회 투여된다.
- [1196] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 약 5-20 mg/주 (예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 17 또는 20 mg/주)의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 약 15 mg/주의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 약 7.5 mg/주의 용량으로 투여된다.
- [1197] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 주사당 약 0.2-8 mg (예를 들어, 주사당 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5 또는 8 mg)의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 주사당 0.22-7.5 mg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자, 예를 들어 LFA3-Fc M1d1 또는 그의 제약 조성물은 주사당 약 7.5 mg의 용량으로 투여된다.
- [1198] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.01 내지 10 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.01, 약 0.02, 약 0.03, 약 0.04, 약 0.05, 약 0.06, 약 0.07, 약 0.08, 약 0.09, 약 0.1, 약 0.2, 약 0.3, 약 0.4, 약 0.5, 약 0.6, 약 0.7, 약 0.8, 약 0.9, 약 1.0, 약 2.0, 약 3.0, 약 4.0, 약 5.0, 약 6.0, 약 7.0, 약 8.0, 약 9.0 또는 약 10.0 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.03 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.3 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 3.0 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA 폴리펩티드 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 25, 약 50, 약 75 또는 약 100 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [1199] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 주사당 약 0.5-1.5 ml 용액 (예를 들어, 주사당 0.5, 1 또는 1.5 ml 용액)으로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 주사당 약 1 mL 용액으로 투여된다.
- [1200] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.5 내지 5 mL/kg의 용량 부피로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 0.5, 약 1.0, 약 1.5, 약 2.0, 약 2.5, 약 3.0, 약 3.5, 약 4.0, 약 4.5 또는 약 5.0 mL/kg의 용량 부피로 투여된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 (예를 들어 LFA3-Fc M1d1) 또는 그의 제약 조성물은 약 2.0 mL/kg의 용량 부피로 투여된다.
- [1201] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 1회 이상 (예를 들어, 1, 2, 3,

4회 또는 그 초과)의 과정 동안 투여되고, 예를 들어 여기서 각각의 과정은 10-14주 (예를 들어, 10, 11, 12, 13 또는 14주), 예를 들어 12주로 이루어지고, 여기서 2개의 인접 과정은 10 내지 14주 간격 (예를 들어, 10, 11, 12, 13 또는 14-주 간격), 예를 들어 12-주 간격으로 이격된다.

- [1202] 일부 실시양태에서, 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 약 15 mg/주의 용량으로 1주 1회 피하로 투여되고, 예를 들어 여기서 본 발명의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 1회 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4회 또는 그 초과)의 과정 동안 투여되고, 여기서 각각의 과정은 12주로 이루어지고, 2개의 인접 과정은 12-주 간격으로 이격된다.
- [1203] 특정한 환자에 대한 유효량은 치료될 상태, 환자의 전반적 건강, 투여 방법 경로 및 용량, 및 부작용의 중증도와 같은 인자에 따라 달라질 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Maynard, et al., 1996, A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla.; Dent, 2001, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ, London, UK] 참조).
- [1204] 투여 경로는, 예를 들어 국소 또는 피부 적용, 정맥내, 복강내, 뇌내, 근육내, 안내, 동맥내, 뇌척수내, 병변내 주사 또는 주입, 또는 지속 방출 시스템 또는 임플란트에 의한 것일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Sidman et al., 1983, Biopolymers 22:547-556; Langer, et al., 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277; Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105; Epstein, et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692; Hwang, et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034]; 미국 특허 번호 6,350,466 및 6,316,024 참조). 필요한 경우에, 조성물은 가용화제 및 주사 부위에서 통증을 완화시키기 위한 국부 마취제, 예컨대 리도카인을 또한 포함할 수 있다. 추가로, 예를 들어 흡입기 또는 네블라이저의 사용, 및 에어로졸화제를 사용한 제제화에 의한 폐 투여도 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,019,968, 5,985,320, 5,985,309, 5,934,272, 5,874,064, 5,855,913, 5,290,540 및 4,880,078; 및 PCT 공개 번호 WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346 및 WO 99/66903을 참조하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자 또는 그의 제약 조성물은 알케르메스 에어(Alkermes AIR)<sup>TM</sup> 폐 약물 전달 기술 (알케르메스, 인크.(Alkermes, Inc.); 매사추세츠주 캠브리지)을 사용하여 투여된다.
- [1205] 본 개시내용의 조성물은 또한 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법 중 1종 이상을 사용하여 1종 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다. 본 개시내용의 폴리펩티드 분자에 대해 선택된 투여 경로는, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 정맥내, 근육내, 피내, 복강내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로를 포함한다. 비경구 투여는 경장 및 국소 투여 이외의 다른, 통상적으로 주사에 의한 투여 방식을 나타낼 수 있고, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다. 대안적으로, 본 개시내용의 조성물은 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질내로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다.
- [1206] 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자가 제어 방출 또는 지속 방출 시스템으로 투여되는 경우에, 펌프를 사용하여 제어 또는 지속 방출을 달성할 수 있다 (문헌 [Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald et al., 1980, Surgery 88:501; Saudek et al., 1989, N. Engl. J. Med. 321:514] 참조).
- [1207] 중합체 물질을 사용하여 본 개시내용의 요법의 제어 또는 지속 방출을 달성할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; see also Levy et al., 1985, Science 11 225:190; During et al., 1929, Ann. Neurol. 25:351; Howard et al., 1989, J. Neurosurg. 71: 105]); 미국 특허 번호 5,679,377; 미국 특허 번호 5,916,597; 미국 특허 번호 5,912,015; 미국 특허 번호 5,989,463; 미국 특허 번호 5,128,326; PCT 공개 번호 WO 99/15154; 및 PCT 공개 번호 WO 99/20253 참조). 지속 방출 제제에 사용되는 중합체의 예는 폴리(2-히드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-코-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜리드 (PLG), 폴리부수물, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리비닐 알콜, 폴리아크릴아미드, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리락티드 (PLA), 폴리락티드-코-글리콜리드 (PLGA), 및 폴리오르토에스테르를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 지속 방출 제제에 사용되는 중합체는 불활성이고, 침출성 불순물이 없고, 저장시 안정하고, 멸균되고, 생분해성이다. 제어 또는 지속 방출 시스템은 예방적 또는 치료적 표적에 근접하게 배치될 수 있고,

따라서 전신 용량의 분획만을 필요로 한다 (예를 들어, 문헌 [Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, 상기 문헌, vol. 2, pp. 115-138 (1984)] 참조).

- [1208] 제어 방출 시스템은 문헌 [Langer, 1990, Science 249:1527-1533]에 의한 검토에서 논의되어 있다. 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 공지된 임의의 기술을 사용하여 본 개시내용의 1종 이상의 폴리펩티드 분자 또는 그의 접합체를 포함하는 지속 방출 제제를 생산할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 4,526,938, 국제 특허 공개 번호 WO 91/05548, WO 96/20698, 문헌 [Ning et al., 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft Using a Sustained-Release Gel," Radiotherapy and Oncology 59:179-189, Song et al., 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions," PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology 50:372-397, Cleek et al., 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application," Pro. Ml. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, 및 Lam et al., 1997, "Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery," Proc. Ml. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-160]을 참조하며, 이들 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [1209] 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자가 국소로 투여되는 경우에, 이는 연고, 크림, 경피 패치, 로션, 젤, 샴푸, 스프레이, 에어로졸, 용액, 에멀전 형태, 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 다른 형태로 제제화될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995)]을 참조한다. 비-분무가능한 국소 투여 형태의 경우에, 국소 적용에 상용성인 담체 또는 1종 이상의 부형제를 포함하고 일부 경우에 물보다 큰 동적 점도를 갖는 점성 내지 반고체 또는 고체 형태가 전형적으로 사용된다. 적합한 제제는 원하는 경우에 멸균되거나, 또는 예를 들어 삼투압과 같은 다양한 특성에 영향을 미치기 위한 보조제 (예를 들어, 보존제, 안정화제, 습윤제, 완충제 또는 염)와 혼합되는, 용액, 현탁액, 에멀전, 크림, 연고, 분말, 도찰제, 살브 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 적합한 국소 투여 형태는 활성 성분이 일부 경우에 고체 또는 액체 불활성 담체와 조합되어 가압 휘발성 물질 (예를 들어, 기체상 추진제, 예컨대 프레온)과의 혼합물 중에 또는 압착병 내에 패키징되는 분무가능한 에어로졸 제제를 포함한다. 보습제 또는 함습제가 또한 원하는 경우에 제약 조성물 및 투여 형태에 첨가될 수 있다. 이러한 추가의 성분의 예는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.
- [1210] LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 조성물이 비강내로 투여되는 경우에, 이는 에어로졸 형태, 스프레이, 미스트로 또는 점적제 형태로 제제화될 수 있다. 특히, 본 개시내용에 따라 사용하기 위한 예방제 또는 치료제는 적합한 추진제 (예를 들어, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체)를 사용하여, 가압 팩 또는 네블라이저로부터 에어로졸 스프레이 제공물의 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투여 단위는 계량된 양을 전달하기 위해 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한 캡슐 및 카트리지 (예를 들어, 젤라틴으로 구성됨)는 화합물의 분말 믹스 및 적합한 분말 베이스, 예컨대 락토스 또는 전분을 함유하여 제제화될 수 있다.
- [1211] 제2 치료제, 예를 들어 시토키인, 스테로이드, 화학요법제, 항생제 또는 방사선과 공-투여하거나 이를 사용한 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman, et al. (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams and Wilkins, Phila., Pa.; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams and Wilkins, Phila., Pa.] 참조). 유효량의 치료제는 증상을 적어도 10 퍼센트; 적어도 20 퍼센트; 적어도 약 30 퍼센트; 적어도 40 퍼센트 또는 적어도 50 퍼센트만큼 감소시킬 수 있다.
- [1212] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자는 아드리아마이신, 아자티오피린, 부솔판, 시클로포스파미드, 시클로스포린 A, 시톡산, 플루다라빈, 5-플루오로우라실, 메토트렉세이트, 미코페놀레이트 모페틸, 6-메르캅토피린, 코르티코스테로이드, 비스테로이드성 항염증, 시롤리무스 (라파마이신) 및 타크롤리무스 (FK-506)를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 자가면역 질환 및 장애를 치료하기 위한 조성물과 공-투여될 수 있다. 대안적 실시양태에서, 면역조절제 또는 면역억제제는 무로모납-CD3, 알렘투주맵 (캄파트(Campath)®), 바실릭시맵, 다클리주맵, 무로모납 (OKT3®), 리툽시맵, 항흉선세포 글로불린 및 IVIg, 및 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다른 것으로 이루어진 군으로부터 선택된 항체이다.
- [1213] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자는 비구아니드 (예를 들어, 부포르민, 메트포르민 및 펜포르민), 호르몬 및 그의 유사체 (아밀린, 인슐린, 인슐린 아스파르트, 인슐린 데테미르, 인슐린 글라진, 인슐린

글루리신, 인슐린 리스프로, 리라글루티드 및 프람린티드), 술폰닐우레아 유도체 (아세토헥사미드, 카르부타미드, 클로르프로파미드, 글리보르누리드, 글리클라지드, 글리메피리드, 글리피지드, 글리퀴돈, 글리속세피드, 글리부리드, 글리부티아졸, 글리부졸, 글리헥사미드, 글리미딘, 톨라자미드, 톨부타미드 및 톨시클라미드), 티아졸리딘디온 (피오글리타존, 로시글리타존 및 트로글리타존), 아카르보스, 액세나티드, 미글리톨, 미티글리니드, 무라글리타자르, 나테글리니드, 레파글리니드, 시타글립틴, 테사글리타자르, 빌다글립틴 및 보글리보스를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 당뇨병을 치료하기 위한 조성물과 공-투여될 수 있다.

[1214] 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자는 생체내 적절한 분포를 보장하도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)은 많은 고도로 친수성인 화합물을 배제시킨다. 본 개시내용의 치료 화합물이 (원하는 경우에) BBB를 횡단하도록 보장하기 위해, 이들을, 예를 들어 리포솜 내에 제제화할 수 있다. 리포솜을 제조하는 방법에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특정 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되는 1개 이상의 모이어티를 포함할 수 있고, 따라서 표적화 약물 전달을 증진시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [V.V. Ranade, 1989, J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조). 예시적인 표적화 모이어티는 플레이트 또는 비오틴 (예를 들어 미국 특허 5,416,016 참조); 만노시드 (Umezawa et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038); 항체 (P. G. Bloeman et al., 1995, FEBS Lett. 357: 140; M. Owais et al., 1995, Antimicrob. Agents Chemother. 39: 180); 계면활성제 단백질 A 수용체 (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233: 134); p120 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090)을 포함하며; 또한 문헌 [K. Keinanen; M.L. Laukkanen, 1994, FEBS Lett. 346:123; Killion; Fidler, 1994; Immunomethods 4:273]을 참조한다.

[1215] 본 개시내용은 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 제약 조성물을 단독으로 또는 다른 요법과 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하기 위한 프로토콜을 제공한다. 본 개시내용의 조합 요법의 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 대상체에게 병용으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 개시내용의 조합 요법의 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 또한 주기적으로 투여될 수 있다. 주기 요법은 소정의 기간 동안 제1 요법 (예를 들어, 제1 예방제 또는 치료제)의 투여에 이어서 소정의 기간 동안 제2 요법 (예를 들어, 제2 예방제 또는 치료제)의 투여, 및 이러한 순차적 투여의 반복, 즉 요법 (예를 들어, 작용제) 중 하나에 대한 내성의 발생을 감소시키고/거나, 요법 (예를 들어, 작용제) 중 하나의 부작용을 피하거나 감소시키고/거나, 요법의 효능을 개선시키기 위한 주기를 수반한다.

[1216] 본 개시내용의 조합 요법의 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 대상체에게 공동으로 투여될 수 있다. 용어 "공동으로"는 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)의 정확히 동시의 투여로 제한되는 것이 아니라, 오히려 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자가 다른 요법(들)과 함께 작용하여 이들이 달리 투여되는 경우보다 증가된 이익을 제공할 수 있도록 하는 순서 및 시간 간격 내에 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 제약 조성물이 대상체에게 투여되는 것을 의미한다. 예를 들어, 각각의 요법은 동시에 또는 상이한 시점에 임의의 순서로 순차적으로 대상체에게 투여될 수 있지만; 동시에 투여되지 않을 경우에도, 이들은 목적하는 치료 또는 예방 효과를 제공하도록 충분히 가까운 시간 내에 투여되어야 한다. 각각의 요법은 임의의 적절한 형태로 및 임의의 적합한 경로에 의해 대상체에게 개별적으로 투여될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 대상체에게 15분 미만, 30분 미만, 1시간 미만 간격, 약 1시간 간격, 약 1시간 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 24시간 간격, 48시간 간격, 72시간 간격, 또는 1주 간격으로 투여된다. 다른 실시양태에서, 2종 이상의 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 동일한 환자 방문 내에서 투여된다.

[1217] 조합 요법의 예방제 또는 치료제는 대상체에게 동일한 제약 조성물로 투여될 수 있다. 대안적으로, 조합 요법의 예방제 또는 치료제는 대상체에게 개별 제약 조성물로 공동으로 투여될 수 있다. 예방제 또는 치료제는 대상체에게 동일한 또는 상이한 투여 경로에 의해 투여될 수 있다.

[1218] VII. 키트

[1219] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 임의의 또는 모든 폴리펩티드 분자를 포함하는 키트를 제공한다. 본 개시내용의 키트는 본원에 기재된 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 1개 이상의 용기, 및 본원에 기재된 개시내용의 임의의 방법에 따른 사용에 대한 지침서를 포함한다. 일반적으로, 이들 지침서는 상기 기재된 치유적 치료를 위한 폴리펩티드 분자의 투여에 대한 설명을 포함한다. 일부 실시양태에서, 키트는 단일-용량 투여 단위를 생

성하기 위해 제공된다. 특정 실시양태에서, 키트는 건조된 단백질을 갖는 제1 용기 및 수성 제제를 갖는 제2 용기 둘 다를 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 어플리케이션, 예를 들어 단일 및 다중 챔버 사전-충전 시린지 (예를 들어, 액체 시린지 및 리오시린지)를 함유하는 키트가 포함된다.

[1220] LFA3 폴리펩티드 분자의 사용에 관한 지침서는 일반적으로 의도된 치료를 위한 투여량, 투여 스케줄 및 투여 경로에 관한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들어 다중-용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 본 개시내용의 키트에 공급되는 지침서는 전형적으로 라벨 또는 패키지 삽입물 (예를 들어, 키트에 포함되어 있는 종이 시트) 상의 서면 지침서이지만, 기계-판독식 지침서 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크에 저장된 지침서)가 또한 허용된다.

[1221] 본 개시내용의 키트는 적합한 패키징으로 제공된다. 적합한 패키징은 바이알, 병, 단지, 가요성 패키징 (예를 들어, 밀봉된 마일라 또는 플라스틱 백) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특정 장치, 예컨대 흡입기, 비강 투여 장치 (예를 들어, 아토마이저) 또는 주입 장치, 예컨대 미니펌프와 조합하여 사용하기 위한 패키지가 또한 고려된다. 키트는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 용기는 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 중 적어도 1종의 활성제는 본 개시내용의 LFA3 폴리펩티드 분자이다. 용기는 제2의 제약 활성제를 추가로 포함할 수 있다.

[1222] 키트는 임의로 추가의 성분, 예컨대 완충제 및 설명 정보를 제공할 수 있다. 통상적으로, 키트는 용기, 및 용기 상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다.

[1223] 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 임의의 또는 모든 폴리펩티드 분자를 포함하는 진단 키트를 제공한다. 진단 키트는, 예를 들어 샘플에서 CD2의 존재를 검출하는데 유용하다. 일부 실시양태에서, 진단 키트는 CD2-매개 질환, 장애 또는 상태 또는 CD2 결핍 질환, 장애 또는 상태가 발생할 위험에 처하게 될 수 있는 잠재성 질환, 장애 또는 상태를 갖는 개체를 확인하기 위해 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 진단 키트는 CD2 매개 질환 또는 CD2 결핍 질환, 장애 또는 상태를 갖는 것으로 의심되는 개체에서 CD2의 존재 및/또는 수준을 검출하는데 사용될 수 있다.

[1224] 본 개시내용의 진단 키트는 본원에 기재된 LFA3 폴리펩티드 분자를 포함하는 1개 이상의 용기, 및 본원에 기재된 개시내용의 임의의 방법에 따른 사용에 대한 지침서를 포함한다. 일반적으로, 이들 지침서는 CD2 매개 질환 또는 CD2 결핍 질환, 장애 또는 상태에 걸릴 위험이 있거나 걸린 것으로 의심되는 개체에서 CD2의 존재를 검출하기 위한 LFA3 폴리펩티드 분자의 사용에 대한 설명을 포함한다. 일부 실시양태에서, 예시적인 진단 키트는 시약, 예컨대, 예를 들어 LFA3 폴리펩티드 분자, 음성 대조군 샘플, 양성 대조군 샘플, 및 키트의 사용에 대한 지침을 함유하도록 구성될 수 있다.

[1225] VIII. 등가물

[1226] 상기 설명 및 하기 실시예는 본 개시내용의 특정의 구체적인 실시양태를 상술하고, 본 발명자들이 고려하는 최적 방식을 기재한다. 그러나, 상기 내용이 아무리 본문에 상세히 나타나 있을 수 있다 하더라도, 본 개시내용은 많은 방식으로 실시될 수 있고, 본 개시내용은 첨부된 청구범위 및 그의 임의의 등가물에 따라 해석되어야 한다는 것이 인지될 것이다.

[1227] 개시된 교시가 다양한 용도, 방법, 키트 및 조성물과 관련하여 기재되었지만, 본원의 교시 및 하기의 청구된 개시내용을 벗어나지 않으면서 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있다는 것이 인지될 것이다. 하기 예는 개시된 교시를 더 잘 예시하기 위해 제공되며, 본원에 제시된 교시의 범주를 제한하는 것으로 의도되지는 않는다. 본 교시가 이들 예시적인 실시양태의 면에서 기재되었지만, 이들 예시적인 실시양태의 수많은 변경 및 변형이 과도한 실험 없이 가능하다는 것을 통상의 기술자는 용이하게 이해할 것이다. 모든 이러한 변경 및 변형은 본 교시의 범주 내에 있다.

[1228] 특허, 특허 출원, 논문, 교재 등을 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌 및 그에 인용된 참고문헌은 이들이 이미 포함되어 있지는 않은 정도로, 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 정의된 용어, 용어 용법, 기재된 기술 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 포함된 문헌 및 유사한 자료 중 하나 이상이 본 출원과 상이하거나 모순되는 경우에, 본 출원이 우선한다.

[1229] IX. 일반적 교시

- [1230] 본 발명은 구체적 합성 제조 방법으로 제한되지 않으며, 이는 당연히 다양화될 수 있다는 것을 이해하여야 한다. 본원에서 달리 정의되지 않는 한, 본 발명과 관련하여 사용된 과학 기술 용어는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 의미를 가질 것이다. 추가로, 문맥에서 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수형을 포함할 것이고, 복수 용어는 단수형을 포함할 것이다. 일반적으로, 본원에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질 및 핵산 화학 및 혼성화와 관련하여 사용되는 명명법 및 그의 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며 통상적으로 사용되는 것이다.
- [1231] 본 발명의 실시는 달리 나타내지 않는 한 분자 생물학 (재조합 기술을 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이며, 이들은 관련 기술분야의 숙련범위 내에 있다. 이러한 기술은, 예컨대 하기 문헌에 상세하게 설명되어 있다: [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd. ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002); Harlow and Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1998); Coligan et al., Short Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY (2003); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)].
- [1232] 효소적 반응 및 정제 기술은 제조업체의 설명서에 따라, 관련 기술분야에서 통상적으로 수행되는 바와 같이 또는 본원에 기재된 바와 같이 수행된다. 본원에 기재된 분석 화학, 생화학, 면역학, 분자 생물학, 합성 유기 화학, 및 의약 및 제약 화학과 관련하여 사용된 명명법 및 그의 실험실 절차 및 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있으며 통상적으로 사용되는 것이다. 화학적 합성, 화학적 분석, 제약 제제, 제제화, 및 전달, 및 환자의 치료를 위해 표준 기술이 사용된다.
- [1233] 실시예
- [1234] 본 개시내용은 하기 실험 실시예를 참조하여 추가로 상세하게 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로 제공되고, 달리 명시되지 않는 한 제한적인 것으로 의도되지 않는다. 따라서, 본 개시내용은 어떠한 방식으로든 하기 실시예로 제한되는 것으로서 해석되어서는 안되고, 오히려 본원에 제공된 교시의 결과로서 명백해지는 임의의 및 모든 변형을 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.
- [1235] 실시예 1: 효모 디스플레이를 통한 LFA3의 안정성 및 친화도 성숙
- [1236] 방법:
- [1237] 단백질 발현 및 정제
- [1238] C-말단 힌지-Pfe Fc를 갖는 인간 LFA3 변이체를 포유동물 발현 벡터 pRY19 내로 클로닝하고, 각각 엑스피펙타민 293 형질감염 키트 (썸모피셔(ThermoFisher)# A14525) 및 ExpiCHO 발현 시스템 키트 (썸모피셔# A29133)를 제조업체의 지침서에 따라 사용하여 Expi293 (썸모피셔) 및 ExpiCHO (썸모피셔) 세포를 일시적으로 형질감염시키는데 사용하였다. 4-7일의 발현 후, 단백질을 수거하고, 맵셀렉트슈어 수지 (지이 헬스케어 #17-5438-01)를 사용하는 단백질 A 친화도 칼럼, 이어서 슈퍼텍스200 13100 증가 칼럼 (지이 헬스케어)을 사용하는 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 정제하였다.

- [1239] 대규모 발현을 위해, CHO SSI 폴딩된 안정한 세포주를 생성하였다. LFA3-Fc M1-d1 및 M1-d3 함유 상청액을 여과하고, 막셀렉트 슈어 LX 수지 상에 포획하였다. 용리된 단백질을 중화시키고, 폴리싱 단계로서 관통 방식으로 SP 칼럼 상에 통과시켰다. 야생형 (WT) LFA3-Fc 단백질에 대해, SEC를 사용하여 단량체 분획을 정제하였다. 상업적 검정 키트를 사용하여 잔류 단백질 A, 숙주 세포 단백질 (HCP) 및 DNA에 대한 공정 불순물을 측정하였다.
- [1240] 인간 LFA3의 효모 표면 디스플레이
- [1241] 인간 LFA3 (잔기 1-93)의 N-말단 Ig-도메인, 예를 들어 서열식별번호: 24의 폴리펩티드를 pRNYD2 또는 pRNYDG 벡터 (화이자(Pfizer))를 사용하여 에스. 세레비지아에(*S. cerevisiae*) 균주 BJ5465의 표면 상에 디스플레이하였다. 두 벡터는 N-말단 V5 에피토프 태그를 갖는 LFA3을 디스플레이하고, LFA3의 C-말단은 Muc3 및 막 앵커링 영역에 융합된다. pRNYD2 벡터는 Ax12의 막횡단 영역을 사용하여 LFA3을 효모의 표면 상에 앵커링하는 반면, pRNYDG는 GPI 링커를 이용한다. 유동 세포측정법을 통한 V5 에피토프 염색 및 CD2 결합에 의해 활성 LFA3의 표면 디스플레이를 확인하였다 (데이터는 제시되지 않음). pRNYDG 시스템은 pRNYD2 시스템과 비교하여 효모 표면 상에서 LFA3을 훨씬 더 효율적으로 및 훨씬 더 높은 발현 수준으로 디스플레이하는 것으로 밝혀졌다.
- [1242] 제1 세대 라이브러리 설계 및 구축
- [1243] 야생형 인간 LFA3:CD2 복합체의 결정 구조에 기초하여 (Wang, et al. (1999) Cell 97, 791-803), LFA3의 15개의 접촉 잔기 및 16개의 내향 소수성 '코어' 잔기를 중첩 연장 PCR 및 축중성 코돈을 갖는 하기 PCR 프라이머를 사용하여 무작위화되도록 선택하였다. 2개의 라이브러리를 구축하였다: '코어' 잔기만의 무작위화를 함유한 1 - S (안정성 라이브러리); 및 접촉 및 '코어' 잔기 둘 다의 무작위화를 함유한 2 - AS (친화도 & 안정성 라이브러리). 효모 상의 발현 수준은 재조합 단백질의 열 안정성과 상관관계가 있는 것으로 보고되었다 (Shusta, et al. (1999) Journal of molecular biology 292, 949-956). 따라서, 개선될 수 있는 LFA3의 열 안정성의 범위를 증가시키도록 더 낮은 표면 발현을 갖는 pRNYD2 디스플레이 플랫폼 상에서 이들 제1 세대 라이브러리를 구축하였다.
- [1244] 접촉 잔기에 대한 PCR 프라이머:
- [1245] Glu25 = VAK, Leu27 = NTT, Lys29 = ANG, Lys32 = ANG, Asp33 = VAM, Lys34 = ANG, Glu37 = VAK, Glu39 = VAM, Glu42 = VAK, Arg44 = ANG, Phe46 = NWT, Ser47 = RST, Pro80 = CNT, Ile82 = NTT, Asp84 = VAM
- 5' - gagtaacgttccttgaag**VAK**gct**NTT**gg**ANG**aaacaa**ANGVAMANG**gtggcagaattagagaatag - 3' (SEQ ID NO: 5)
- 5' - gaaaaaacaaaagataaagtggca**VAK**ita**VAM**aatagt**VAK**itt**ANG**gct**NWTRST**tcatttaagaatagggtc - 3' (SEQ ID NO: 6)
- [1246] 5' - gtacgaaatggagtc**CNT**aat**NTT**aca**VAM**acaatgaagttttttgtac - 3' (SEQ ID NO: 7)
- [1247] '코어' 잔기에 대한 PCR 프라이머:
- [1248] Phe15 = NTT, Val17 = NTT, Leu23 = NTT, Val26 = NTT, Trp28 = TKS, Val35 = NTT, Ala36 = KYA, Leu38 = NTT, Phe43 = NTT, Ala45 = KYA, Leu55 = NTT, Gly60 = RST, Leu62 = NTT, Met77 = WTS, Met86 = WTS, Phe88 = NTT
- 5' - gtttacggtaatgtgact**NTT**cac**NTT**ccgagtaacgtcct**NTT**aaggaa**NTT**ta**TKS**aaaaaacaaaagataaaagt g - 3' (SEQ ID NO: 8)
- 5' - cttatgaaaaaacaaaagataaa**NTTKYA**gaa**NTT**gagaatagtgag**NTT**agg**KYA**tttagttcatttaagaatag - 3' (SEQ ID NO: 9)
- 5' - catttaagaatagggtctat**NTT**gatactgtatcc**RST**tct**NTT**accatttataatttaacaagtag - 3' (SEQ ID NO: 10)
- 5' - gatgaagacgagtacgaa**WTS**gagtcctccctaatattacagacaca**WTS**aag**NTT**ttttgtacgttttggg - 3' (SEQ ID NO: 11)
- [1249]
- [1250] AS 라이브러리를 구축하기 위해, 접촉 및 '코어' 잔기의 무작위화를 함유하는 LFA3 유전자 단편을 개별적으로

증폭시키고, 전기천공 전에 ApaI/NcoI 이중-소화된 pRNYD2 벡터와 함께 혼합하였다. 효모 라이브러리의 전기천공, 구제 및 확장을 이전에 기재된 바와 같이 수행하였다 (Chao, et al. (2006) Nature protocols 1, 755-768). 최종 AS 및 S 라이브러리는 각각 대략  $1.5 \times 10^8$  및  $1.3 \times 10^8$  개의 형질전환체를 함유하였다.

[1251] 제1 세대 선택

[1252] 모든 라운드의 선택에 대해 20°C에서 LFA3 변이체의 효모 상의 발현을 유도하고, 다음 2가지 선택적 파라미터를 변화시킴으로써 라이브러리 선택을 수행하였다: 1 - 열 안정성을 개선시키기 위해 효모에 열 변성을 적용함; 및 2 - 친화도를 보유하거나 개선시키기 위해 CD2의 농도를 유지하거나 낮춤. 각각의 라이브러리에 대해 총 4 라운드의 선택을 수행하였다.

[1253] S 라이브러리 선택:

[1254] S 라이브러리 선택을 위해, 리간드 (hCD2-비오틴)를 1  $\mu$ M의 일정한 농도로 유지한 반면, 선택 라운드를 통해 증가하는 열 노출을 적용하여 CD2에 대한 야생형 유사 친화도를 유지하면서 가장 열 안정한 클론을 풍부화시켰다. 효모 상에서 단백질 안정성을 진화시키기 위한 이전에 보고된 접근법으로부터 선택 전략을 적합화시켰다 (Shusta, et al. (2000) Nature biotechnology 18, 754-759). 라운드 1의 경우, 대략  $2.0 \times 10^9$  개 세포를 추가의 열 노출 없이 hCD2-비오틴과 함께 4°C에서 1시간 동안 인큐베이션하고, PBE (PBS, pH 7.4 + 0.5% (w/v) BSA + 2 mM EDTA, pH 8.0)로 2회 세척하였다. 라이브러리를 후속적으로 15분 동안 1:50 스트렙타비딘-PE (SA-PE, 라이프 테크놀로지스(Life Technologies) #S21388)로 염색하고, 2회 세척하고, 최종적으로 20분 동안 1:10 상자성 항-PE 마이크로비드 (밀테니(Miltenyi) #130-048-801)로 표지하였으며, 이들 모두 4°C에서 수행하였다. MACS LS 칼럼 (밀테니 #130-042-401) 및 퀴드로MACS 분리기 (밀테니 #130-090-976)를 제조업체의 지침서에 따라 사용하여 라이브러리를 선택하였다. 라운드 2-4의 경우, PBE 중  $1.0 \times 10^8$  개 세포를 각각 가열 블록 (에펜도르프(Eppendorf))을 사용하여 [46°C에서 20분], [46°C에서 30분] 및 [46°C에서 20분 + 50°C에서 10분]에 노출시켰다. 열 변성 후, 라이브러리를 4°C에서 1시간 동안 1  $\mu$ M hCD2-비오틴으로 염색하고, 2회 세척하고, 4°C에서 10분 동안 SA-PE (hCD2 결합을 검출하기 위함) 및 항-V5-FITC (LFA3 변이체 발현을 검출하기 위함)로 공동-표지하였다. SH800 분류기 (소니(Sony))를 사용하여 CD2+V5+ 이중-양성 집단을 분류하는 2-색 FACS에 의해 라이브러리 선택을 수행하였다.

[1255] AS 라이브러리 선택:

[1256] AS 라이브러리 선택을 위해, hCD2-비오틴 농도를 낮추고, 선택 라운드를 통해 증가하는 열 노출을 적용하여 가장 높은 친화도를 가지면서 가장 열 안정한 클론을 풍부화시켰다. AS 라이브러리에 대한 선택 라운드의 기준 및 양식은 본질적으로 상기 기재된 S 라이브러리에 대한 것과 동일하였으며 다음 1가지만 변경되었다: 라운드 2-4의 경우, 라이브러리를 1  $\mu$ M 리간드로 염색하는 대신에, AS 라이브러리를 4°C에서 1시간 동안 40 nM hCD2-비오틴으로 염색하였다.

[1257] 선택의 종결 시에, 100  $\mu$ l의 라운드-4-후 S 및 AS 라이브러리를 사용하여 지모프렙(Zymoprep)<sup>TM</sup> 효모 플라스미드 미니프렙 II 키트 (지모 리서치(Zymo Research) #D2004)를 제조업체의 지침서에 따라 사용하여 라이브러리 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA를 화학적으로 적격인 TOP10 이. 콜라이 내로 형질전환시키고, 플레이팅하여 개별 클론을 서열분석하였다.

[1258] 제2 세대 '루프' 라이브러리 설계 및 구축

[1259] LFA3 변이체의 친화도를 추가로 개선시키기 위해, 증첩 연장 PCR을 위한 주형으로서 WT 및 제1 세대 변이체 중 3종 (M1, M4 및 M5)을 사용하고 하기 축중성 프라이머로 FG 루프를 무작위화함으로써 제2 세대 라이브러리를 구축하였다. FG 루프가 가장 작은 전하/표면 상보성을 갖는 LFA3:CD2 계면의 영역이기 때문에, 이러한 설계에 대한 근거는 결합 에너지를 최적화하기 위해 루프를 완전히 무작위화하는 것이다. 반드시 고친화도는 아닌 고발현 클론의 우선적인 선택을 피하기 위해 최적의 표면 발현을 위한 pRNYDG 디스플레이 플랫폼 상에서 '루프' 라이브러리를 구축하였다.

[1260] 루프 잔기에 대한 PCR 프라이머:

[1261] Ser79 = NNK, Pro80 = NNK, Asn81 = NNK, Ile82 = NNK, Thr83 = NNK, Asp84 = NNK, Ser85 = NNK



도를 증가시키도록 프로그램화하였다. ViiA 7 소프트웨어에서 용융 곡선의 제1 전이에 상응하는 온도를 측정함으로써 LFA3-Pfe 변이체의 용융 온도를 정량화하고, 프리즘 6을 사용하여 포인트를 플롯팅하였다.

- [1278] 열 강제 응집
- [1279] PBS, pH 7.2 중 1 mg/ml의 LFA3-Pfe 변이체 (20  $\mu$ l/반응)를 지시된 온도에서 24시간 동안 테트라드 2 펠티에 써멀 사이클러 (바이올라드)를 사용하여 가열하였다. 열-유도된 응집의 수준을 평가하기 위해, 15  $\mu$ l/샘플을 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 분석을 위한 YMC-팩 디올-200 (YMC) 칼럼 상에 로딩하였다. 생성된 크로마토그램을 사용하여 온도의 함수로서 % 고분자량 중 (HMMS), % 이량체 및 % 단량체를 정량화하였다.
- [1280] 낮은-pH 유지
- [1281] PBS, pH 7.2 중 1.5 mg/ml의 LFA3-Pfe 변이체를 10% (v/v)의 0.4 M 글리신, pH 2.7 또는 PBS, pH 7.2와 혼합하고 (즉 5  $\mu$ l의 글리신 또는 PBS를 50  $\mu$ l의 단백질에 첨가함), 실온에서 5시간 동안 인큐베이션하였다. 샘플을 4.55% (v/v)의 0.25 M 트리스 염기, pH 7.4 또는 PBS로 중화시켰다 (즉 2.5  $\mu$ l의 중화 완충제를 55  $\mu$ l의 샘플에 첨가함). 낮은-pH-유도된 응집의 수준을 평가하기 위해, 25  $\mu$ l/샘플을 크기 배제 크로마토그래피 (SEC) 분석을 위한 YMC-팩 디올-200 (YMC) 칼럼 상에 로딩하였다. 생성된 크로마토그램을 사용하여 온도의 함수로서 % 고분자량 중 (HMMS), % 이량체 및 % 단량체를 정량화하였다.
- [1282] 동결-해동 및 진탕 안정성
- [1283] 물질을 -80°C 또는 -20°C에서  $\geq$ 30분 동안 동결시키고, 5°C에서  $\geq$ 30분 동안 해동시키고, 불텍싱하여 동결-해동 안정성을 평가하였다. 공정을 5회 사이클 동안 반복하고, 샘플을 분석용 SEC에 의해 평가하였다. 진탕 안정성에 대해, 샘플을 (PS80의 존재 및 부재 하에) 300 rpm에서 24시간 동안 진탕시키고, 가용성 응집 및 침전에 대해 검사하였다.
- [1284] 열안정성 (시차 주사 열량측정법)
- [1285] 마이크로칼 VP-모세관 DSC를 사용하여 60°C/시간의 비율로 10-110°C에서 스캐닝함으로써 DSC에 의한 열안정성을 평가하였다. 샘플을 완충제 중에 1 mg/ml로 희석하였다.
- [1286] 단백질 분석
- [1287] 모세관 겔 전기영동 (cGE)
- [1288] 샘플을 1 mg/ml로 희석하였다. 비환원된 샘플을 아이오도아세트아미드 (IAM)로 처리하고, 환원된 샘플을 DTT로 처리하였다. cGE 랩칩 HT 항체 발현 200 방법 (퍼킨 엘머(Perkin Elmer))을 사용하여 분석을 수행하였다.
- [1289] 분석용 SEC
- [1290] YMC-팩 디올-200 크로마토그래피 (와이엠씨 아메리카(YMC America)) 칼럼을 사용하여 SEC-HPLC 분석을 수행하였다.
- [1291] 점도
- [1292] 레오센스 m-VROC 점도계를 사용하여 점도를 측정하였다. 단백질을 히스티딘 수크로스 EDTA 완충제 pH 5.8 중에 제제화하고, 점도를 최대 150 mg/ml의 농도에서 측정하였다.
- [1293] 단백질 특징화
- [1294] 친화도-포획 자기-상호작용 나노입자 분광분석법 (AC-SINS)
- [1295] 항-인간 IgG로 코팅된 금 나노입자를 사용하여 AC-SINS 검정을 수행하였다. PBS 중 50  $\mu$ g/ml의 샘플을 코팅된 나노입자와 혼합하고, 2시간 동안 인큐베이션하였다. 샘플을 UV 투명 플레이트로 옮기고, 흡광도를 450 내지 650 nm에서 측정하였다.
- [1296] FcRn 크로마토그래피
- [1297] 비오틴화된 인간 FcRn을 스트랩타비딘 수지 상에 포획하고, 칼럼 내로 패킹하였다. 50  $\mu$ g의 샘플을 칼럼 상에 주입하고, pH 5.5 내지 8.8의 선형 용리 구배를 적용하였다. 대조군 mAb와 비교한 상대 용리 시간 및 50% 피크 높이에서의 피크 폭을 기록하였다.
- [1298] 다반응성 ELISA

- [1299] ELISA 플레이트를 10  $\mu\text{g/ml}$  dsDNA 또는 5  $\mu\text{g/ml}$  인슐린으로 밤새 코팅하였다. 플레이트를 ELISA 완충제 (PBS, 0.05% 트윈-20, 1 mM EDTA)로 차단하고, 시험 단백질을 1  $\mu\text{g/ml}$ 로부터 시작되는 4배 연속 희석물을 사용하여 적용하였다. HRP-접합된 염소 항-인간 IgG를 사용하여 결합을 검출하였다.
- [1300] 인 실리코 면역원성
- [1301] 에피박스 ISPRI 웹-기반 스크리닝 툴키트를 사용하여 인 실리코 면역원성을 평가하였다.
- [1302] 결합 친화도 분석
- [1303] 재조합 CD2에 결합하는 LFA3-Fc 변이체의 친화도를 비아코어 T200 기기 (지이 헬스케어, 뉴저지주 피스카타웨이)를 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정하였다. 비오틴화된 CD2 단백질을 낮은 커플링 밀도로 스트렙타비딘 (SA) 코팅된 비아코어 센서 칩 (시리즈 S 센서 칩 SA, BR100531, 지이 헬스케어) 상에 포획하였다. 25°C에서 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl 및 0.005% v/v 계면활성제 P20 (HBS-P) 완충제 중 30  $\mu\text{l}$ /분 유량을 사용하여 실험을 수행하였다. 표면 상에 2분 동안 LFA3-Fc 변이체를 주입하고, 보다 높은 친화도 클론에 대해 추가로 5분 또는 10분 동안 해리를 모니터링하였다. 재생은 필요하지 않았다. 비아코어 T200 평가 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하고, 각각의 항체에 대해 완충제만 주입한 것과 함께 스트렙타비딘만이 고정화된 인접 대조군 유동 세포로부터의 신호를 배경 차감하였다. 평형 결합 모델을 사용하여 친화도 상수 (Kd)를 계산하였다.
- [1304] 결과
- [1305] 구조 기반 설계를 사용하여 인간 LFA3의 제1 세포의 도메인에 기초한 효모 디스플레이 라이브러리를 구축하였다 (도 1). AS 및 S 라이브러리는 각각  $\sim 1.5 \times 10^8$  및  $\sim 1.3 \times 10^8$ 개의 형질전환체를 함유하는 것으로 추정되었다. 나이브 라이브러리의 서열 분석은 각각의 라이브러리에서 클론당 대략 6-7개의 돌연변이를 확인시켜 주었다.
- [1306] 라이브러리를 유도 후 증가량의 열 노출 및 감소하는 농도의 AS 라이브러리에 대한 CD2 리간드에 노출시켰다. 4 라운드의 선택 후에, 개별 클론을 서열분석하고, 다음 6개의 핫스팟 잔기를 확인하였다: A36, L38, F43, A45, M77 및 M86 (도 2a 및 2b). 이들 6개의 위치에서 관찰된 가장 빈번한 잔기에 기초하여 (도 2c), 6개의 재조합 변이체를 설계하고 (M1->M6) (도 2d), 포유동물 세포에서 Fc 융합 단백질로서 발현시켰다. M1 내지 M6 Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 변이체 LFA3 세포의 도메인 (각각 서열식별번호: 17-22)을 포함한다 (표 2). 인간 IgG1 Fc 영역 서열식별번호: 16은 도면 및 출원 전반에 걸쳐 "Pfe"로도 지칭된다. 상응하는 뉴클레오티드 서열이 표 3에 제공된다.
- [1307] 실시예 1 및 실시예 2에 기재된 연구에서, M1 내지 M6 Fc 융합 단백질뿐만 아니라 다른 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질을 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질과 비교하였다. 2개의 참조 야생형 LFA3-Fc 융합 단백질을 연구에 사용하였으며, 이들 둘 다는 인간 IgG1 Fc 영역에 융합된 야생형 인간 LFA3의 제1 세포의 도메인을 포함한다. 제1 참조 분자는 "WT LFA3-Fc" 또는 "LFA3-Fc WT" (서열식별번호: 4)로 지칭되며, 이를 알레파셋트의 공개된 서열에 기초하여 생성하였다. 이 참조 분자는 US5547853 (그 전문이 본원에 참조로 포함됨)에 개시되었다. 제2 참조 분자는 "WT LFA3-Pfe" (서열식별번호: 120)로 지칭되며, 이는 WT LFA3-Fc와 동일한 야생형 인간 LFA3의 제1 세포의 도메인을 포함하지만 약간 상이한 인간 IgG1 Fc 영역을 갖는다. 일부 실시양태에서, LFA3-Fc WT (서열식별번호: 4) 및/또는 WT LFA3-Pfe (서열식별번호: 120)는 카르복시 말단 리신 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 4 및/또는 서열식별번호: 120은 카르복시 말단 리신 잔기를 포함하지 않는다. 일부 실시양태에서, 서열식별번호: 128은 카르복시 말단 리신 잔기를 포함하지 않는다.
- [1308] LFA3 변이체 Fc 융합 단백질을 특징화하여 재조합 단백질의 안정성 및 잠재적 제조성 속성을 평가하였다. 변이체를 그의 단량체 발현, 전체 수율, 열 안정성 및 열 응력 하의 응집 경향에 기초하여 등급화하였다 (도 3a-3d). 이 분석에 기초하여 변이체 M1, M4 및 M5가 가장 바람직한 특성을 갖는 것으로 확인하였다.
- [1309] CD2에 대한 증가된 결합 친화도를 갖는 클론을 확인하기 위해 제2 세대 라이브러리를 설계하였다. 이 라이브러리는 주형으로서 야생형 M1, M4 및 M5 변이체를 사용하여 LFA3의 FG 루프 상의 7개의 잔기를 돌연변이시켰다 (도 4). 서열 분석에 기초하여, 12개의 변이체 LFA3-Fc 융합 단백질을 설계하고 추가의 분석을 위해 포유동물 세포에서 발현시켰다 (CM1d1->CM6d1 및 ML1d1->ML6d1). CM1d1 내지 CM6d1 Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 변이체 LFA3 세포의 도메인 (각각 서열식별번호: 30-35)을 포함한다 (표 2). 유사하게, ML1d1 내지 ML6d1 Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 변이체 LFA3 세포의 도메인 (각각 서열식별번호: 36-41)을 포함한다 (표 2). 상응하는 뉴클레오티드 서열이 표 3에 제공된다.

- [1310] 제2 세대 루프 라이브러리로부터 확인된 클론을 Fc 융합 단백질로서 발현시키고, 시차 주사 형광측정법 (DSF)을 사용하여 열 안정성에 대해 평가하고 (도 5b), 비아코어 결합 검정을 사용하여 SPR에 의해 재조합 CD2 단백질에 대한 결합 친화도에 대해 평가하였다 (도 5a). 평가된 가장 높은 친화도 클론은 60-100 nM 범위의 겔보기 친화도를 가졌다 (도 5a). 평가된 가장 높은 친화도 클론은 모 WT LFA3-Fc 단백질과 비교하여 ~20배 및 M1d1-Pfe ("LFA3-Fc M1d1"로도 지칭됨) 및 M4d1-Pfe 변이체에 비해 10배 친화도 증가를 가졌다 (도 5a). 변이체 CM2d1-Pfe, CM5d1-Pfe 및 ML3d1-Pfe는 야생형 구축물 (WT LFA3-Fc 및 WT LFA3-Pfe) 뿐만 아니라 모 변이체 구축물 (M1d1-Pfe 및 M4d1-Pfe)과 비교하여 DSF에 의해 증가된 열안정성을 갖는다 (도 5b).
- [1311] 구조 분석에 기초한 합리적 설계를 사용하여 발현 구축물에 포함된 LFA3 도메인의 c-말단 경계를 연장시켰다 (도 6a). 야생형 LFA3 도메인 (LFA3-Fc d1) 또는 M-변이체 (M1-d1 및 M4-d1) 상의 추가의 c-말단 류신 잔기를 코딩하는 구축물을 발현시키고 정제하였다. LFA3-Fc d1, M1-d1 ("M1d1"로도 지칭됨) 및 M4-d1 ("M4d1"로도 지칭됨) Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 LFA3 도메인 (각각 서열식별번호: 24, 26 및 28)을 포함한다 (표 2). 상응하는 뉴클레오티드 서열이 표 3에 제공된다. d1-변이체는 LFA3 Fc 융합 단백질에 대해 이전에 공개된 도메인 경계로 발현된 단백질과 비교하여 감소된 응집체 형성 및 증가된 열 안정성을 갖는 것으로 밝혀졌다 (도 6b 및 6d). M1 또는 M4 배경에 대한 도메인 경계 변형 (d1)의 부가는 세포 배양물로부터의 단백질의 단량체 분율 (도 6c) 및 DSF에 의해 측정시 열 안정성 (도 6d)을 추가로 증가시켰다.
- [1312] 추가의 1개 내인성 아미노산 (d1, +L) (도 7a) 또는 6개 내인성 아미노산 (d3, +LESLS) (도 7b)을 포함하는 변이체를 Fc 융합 단백질로서 생산하고, 안정성 및 결합 친화도에 대해 특징화하였다. M1-d1 및 M1-d3 ("M1d3"으로도 지칭됨) Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 LFA3 도메인 (각각 서열식별번호: 26 및 27)을 포함한다 (표 2). 상응하는 뉴클레오티드 서열이 표 3에 제공된다. 두 변이체인 M1-d1 및 M1-d3은 유사한 CD2 결합 친화도 및 시험관내 열 안정성을 나타낸다 (도 7c 및 7d).
- [1313] 추가의 LFA3 변이체 M7을 M1에 비해 위치 86에서 1개 추가의 야생형 잔기를 함유하도록 설계하였다 (도 8a). M7-d1 ("M7d1"로도 지칭됨) Fc 융합 단백질은 인간 IgG1 Fc 영역 (서열식별번호: 16)에 융합된 LFA3 도메인 (서열식별번호: 29)을 포함한다 (표 2). 상응하는 뉴클레오티드 서열이 표 3에 개시된다. M7-d1을 특징화하여 단량체 분율 (도 8b), 열 안정성 (도 8c) 및 재조합 CD2에 대한 결합 친화도 (도 8d)를 평가하였다.
- [1314] 변이체 LFA3-Fc 및 WT LFA3-Fc를 안정성 및 잠재적 제조성 속성에 대해 특징화하였다 (표 4 및 표 5). 이들 검정은 M1-d1 ("M1d1"로도 공지됨) 변이체가 단량체 단백질 발현, 열 안정성, 응집 경향, 낮은 pH 유지에 대한 감수성 및 동결-해동 사이클의 관점에서 야생형 Fc 융합체보다 유의하게 더 안정하다는 것을 밝혀내었다 (표 4).
- [1315] 표 4. LFA3-Fc 변이체의 신규하고 유용한 분자 특성

	WT LFA3-Fc	*M1-d1 조작된 변이체
단백질 A를 제외한 단량체 중 (%)	73.9% 단량체 19% HMWS, 7.1% LMWS	>99%
분석 SEC	99.2% 단량체	99.6% 단량체
DSC/DSF에 의한 열 안정성	DSC: Tm1, 47°C DSF: Tm1, 40°C	DSC: Tm1, 65°C DSF: Tm1, 60°C
강제 응집 경향	40°C HMWS ~23%로 증가 50°C HMWS ~29%로 증가	40°C HMWS의 증가 없음 50°C HMWS ~3%로 증가
낮은 pH 유지 (5시간)	11% HMWS, LMWS의 증가 없음	4% HMWS, LMWS의 증가 없음
동결-해동 (5회 사이클)	HMWS의 ~2% 증가	HMWS의 증가 없음
SPR에 의한 인간 재조합 CD2에 대한 친화도 (K <sub>D</sub> )	1.41 - 1.47 μM	0.73 - 1.08 μM
SPR에 의한 시노 재조합 CD2에 대한 친화도 (K <sub>D</sub> )	1.5 μM	1.06 μM

- [1316]
- [1317] HMWS는 고분자량 종을 지칭하고, LMWS는 저분자량 종을 지칭한다.
- [1318] \*본원에 개시된 모든 LFA3-Fc 변이체를 포괄하는 예시적인 실시양태.

[1319] 표 5. LFA3-Fc M1-d1 조작된 변이체의 분자 특성의 개관

분자 특성	3개의 예측된 N-연결된 글리코실화 부위, 1개의 추정 탈아미드화 부위, 2개의 추정 이성질화 부위, 1개의 메티오닌	글리칸 cGE	항체 Fc에 공통인 N-글리칸 함유 고도 분지형 및 시알릴화 (9.1 nmol 시알산/nmol LFA3-Fc)
발현	SSI 풀 세포주 제12일 수거 수율 ~150-300 mg/l	공정 불순물	rProA 39 ng/mg, HCP 293 ng/mg, DNA 27 ng/mg
정제	비-플랫폼 정제 공정; 낮은 pH 유지 절차 및 TMAE 정제 단계와의 상용성에 관한 잠재적 문제	F/T	5회 사이클 (5°C/-20°C) 후 변화 없음
점도	MOD1 제제 중 150 mg/ml에서 11 cP	진탕	25°C에서 0.8-1.5% HMMS 증가. 40°C에서 Glu의 ~1% HMMS 증가
용해도	적어도 - 모든 시험된 완충제 중 175 mg/ml	활성	안정성 샘플에서 ADCC EC50의 변화 없음
SEC	단백질 A 이후 모든 제제 >99% SOI. 25°C에서 0.8-1.5% HMMS 증가. 40°C에서 Glu의 ~1% HMMS 증가.	면역원성	에피박스 면역원성 지수 점수 -13.52; 내인성 서열로 인한 IRAMP 권장 중간-높음
DSC	히스티딘 완충제 pH 5.8에서 T <sub>m</sub> 65 °C	AC-SINS	낮은 AC-SINS 점수, Δλ 최대 흡광도 1
cGE	환원 및 비-환원 조건 하에 고순도. 5°C 및 25°C에서 변화 없음. 40°C에서 NRCGE에 의한 LMMS의 2-5% 증가	FcRn 칼럼 용리	낮은 FcRn 칼럼 용리 시간 -0.6 분
iCE	복잡한 전하 프로파일 - 15-18종의 상이한 종	다중특이성	DNA 및 인슐린 다중특이성 점수 1

[1320]

실시예 2: M1d1의 추가의 시험관내 및 생체내 특정화

[1321]

서론

[1322]

LFA3-Fc는 지금까지 질환-조절 개입에 대해 대부분 불응성이었던 질환인 제1형 당뇨병 (T1D)에서 면역 관용을 회복시키는 잠재력을 갖는 (최적화되면) 중요한 치료 경로를 표적화하고, 따라서 특히 소아에서 큰 미충족 의료 필요를 나타낸다.

[1323]

M1d1 ("M1-d1", "LFA3-Fc M1d1" 및 "LFA3-Fc M1-d1"로도 지칭됨)은 IgG1 Fc 영역에 융합된 LFA3의 제1 세포의 도메인으로 구성된 이량체 LFA3-Fc 융합 단백질이다. M1d1은 안정성 및 제조성을 개선시키기 위해 LFA3 세포의 도메인에 4개의 비-내인성 아미노산을 함유하도록 조작되었다. 이론에 얽매는 것을 원하지는 않지만, M1d1은 ADCC/세포독성을 통해 기억 CD4 및 CD8 T 세포의 수를 감소시키고, 동시에 Treg 및 T<sub>H</sub>1 세포는 비교적 보존시키며, CD2/LFA3 상호작용을 조정하여, CD4+ T 세포 및 CD8+ T 세포 둘 다에서 Treg/T<sub>EM</sub> 및 Treg/T<sub>CM</sub> 비의 개선을 유도할 수 있다. M1d1은 제안된 작용 메커니즘 (MOA) 및 치료 가설과 일치하는 시노물구스 원숭이에서의 면역 표현형의 조정을 입증하였다. M1d1을 사용한 비-임상 연구는 PK가 선형이고 용량이 비례한다는 것을 시사하며, 비-GLP TK 연구는 예상된 림프구 감소 이외에 어떠한 안전성 소견도 밝혀내지 않았다. 약리학적 특성의 요약이 표적 CD4 기억 세포 집단에 대한 데이터와 함께 하기 표 6에 포함된다.

[1325] 표 6. LFA3-Fc 변이체의 신규하고 유용한 약리학적 특성의 요약

	세포 결합	MLR	과상풍 독소이드 회상
	LFA3-Fc 결합은 CD2 발현과 상관관계가 있음	동종 T 세포 반응; 증식/시토카인의 억제	TT 회상 반응; CD4 T <sub>mem</sub> IFN $\gamma$ 의 억제
	CD4 T <sub>mem</sub> K <sub>d</sub>	CD4 IC <sub>50</sub>	IFN $\gamma$ IC <sub>50</sub>
*M1d1	94 pM (n=3)	0.302 nM (n=8)	1.34 nM (n=3)
WT LFA3-Fc	501 pM (n=3)	2.48 nM (n=8)	28.4 nM (n=3)

[1326] \*본원에 개시된 모든 LFA3-Fc 변이체를 포괄하는 예시적인 실시양태.  
[1327] 방법

[1328] 방법  
[1329] CD2 발현 분석

[1330] 림프구 하위세트를 위해, 림포프랩 (스텨셀 테크놀로지스(Stemcell Technologies) #07851)을 사용하여 인간 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC)를 단리하였다. 마카크로부터의 PBMC를 PBS 중 90% 림포프랩 (코닝(Corning) #21-040-CM)을 사용하여 단리하고, 형광-활성화 세포 분류 (FACS) 완충제 (PBS 플러스 0.2% BSA (잭슨 이뮤노 리서치(Jackson Immuno Research) #001-000-173)) 중에 재현탁시켰다. 인간 트루스테인 FcX (바이올레전드(BioLegend) #422302)를 사용하여 인간 세포를 차단하였다. 샘플당 2백만개의 PBMC를 염색하였다. T-헬퍼 세포 하위세트를 위해, 이지 셉 키트 (스텨셀 테크놀로지 #19052)를 제조업체의 지침서에 따라 사용하여 CD4 세포를 단리한 다음, 샘플당 1백만개의 세포를 염색하였다. 표면 염색을 위해, 세포를 분석 전 세포내 (IC) 고정 완충제 (이바이오사이언스(Ebioscience) #00-8222-49) 중에 고정시켰다. FoxP3 염색을 위해, 인간 FoxP3 완충제 세트 (비디 파밍겐(BD Pharmingen) #560098)를 제조업체의 지침서에 기초하여 사용하였다. 인간 PBMC의 경우, 세포를 하기 항체로 염색하였다: CD4 BUV395, CD3 PerCp-e710, CD2 PE, CD45RO PeCy7, CD8 FITC, CCR7 BV421, TIGIT APC, PD1 BV650, 근IR 생존율 (패널 1); 또는 CD4 BUV 395, CD3 Percp-e710, CD2 PE, CD8 BUV 496, CD20 FITC, CD159a A647, CD25 BV421, CD127 BV605, 및 근IR 생존율. 시노 PBMC의 경우, 세포를 하기 항체로 같이 염색하였다: CD95 BUV 395, CD4 PerCP-e710, CD2 PE, CD28 PeCy7, CD8 BUV496, CD3 FITC, CD20 V450, CD159a APC, PD1 BV650, 근-IR 생존율 (패널 1); 또는 CD4 Percpe710, CD3 FITC, CD25 BV421, CD2 PE, FoxP3 APC, 및 근-IR 생존율. 세포를 LSR 포르테사 상에서 실행시키고, 퀴티브라이트 비드를 샘플 수집 시에 실행시켰다 (제조업체의 지침서에 따라). 근적외선 (IR) 형광 반응성 생존율 염료 (인비트로젠 #L34976)를 사용하여 생존 세포를 식별하였다. 데이터를 기하 평균 형광 강도 (gMFI)로서 표현하였다.

[1331] LFA3-Fc 경쟁적 결합 검증

[1332] PBMC 및 하위세트 단리

[1333] 퍼시픽 혈액 센터 (캘리포니아주 샌프란시스코)에서 건강한 공여자로부터 트리마 분리반출술 수집에 의해 PBMC가 풍부화된 잔류물을 입수하였다. PBMC를 밀도 구배 원심분리에 의해 단리하였다. PBMC로부터 음성 선택 키트 (스텨셀 테크놀로지스)에 의해 정제된 CD4/CD8 나이브, 중심 기억 및 이펙터 기억 집단을 단리하였다.

[1334] 전혈로부터 CD4 풍부화 로제트셋(RosetteSep)<sup>TM</sup> 각테일 (스텨셀 테크놀로지스)을 사용한 다음, 마커 CD4-플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC) CD127-PE 및 CD25-APC를 사용하는 형광 활성화 세포 분류에 의해 T 조절 세포를 단리하였다. T 조절 세포는 CD4<sup>hi</sup>CD127<sup>lo</sup>CD25<sup>hi</sup>로 확인되었다. 단리된 T 조절 세포를 X-VIVO 배지 (론자)에서 디나비드 인간 Treg 확장자 비드 (인비트로젠)의 존재 하에 최대 2주 동안 배양하여 확장시켰다.

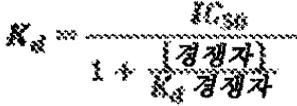
[1335] 세포 결합 검증

[1336] 단리 후, CD4 및 CD8 하위세트를 웰당 5x10<sup>4</sup> 개 세포의 밀도로 플레이팅하였다. 플레이트를 스핀 다운시키고, 인간 결정화된 단편 Fc 블록 (웰당 2  $\mu$ l), LFA3-Fc M1d1 또는 LFA3-Fc WT의 연속 희석물 및 경쟁자 상업용 항-CD2-FITC (클론 RPA2.10)을 함유하는 FACS 완충제 (2% BSA를 함유하는 PBS) 중에 재현탁시켜 Kd를 결정하였다. 경쟁자 항체가 여전히 검출될 수 있지만 경쟁에서 벗어날 수 있도록 경쟁자 농도를 EC<sub>50</sub>보다 더 낮은 값에서 일정하게 유지시켰다 (3.23 x 10<sup>-8</sup> M). 세포를 얼음 상에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 세포를

FACS 완충제로 3회 세척하고, 생존율 염료를 함유하는 FACS 완충제 100 μl 중에 재현탁시켰다. CD4 이펙터 및 중심 기억 구별을 위해, CCR7-BV421을 포함시켰다. 15-분 인큐베이션 후에, 세포를 FACS 완충제로 세척하고, 50 μl FACS 완충제 중에 재현탁시키고, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다.

[1337] 데이터 분석

[1338] LFA3-Fc에 대한 Kd를 쉐 프루소프 방정식을 사용하여 계산하였다.



[1339]

[1340] 로그 LFA3-Fc 항체 농도에 대해 경쟁자 결합의 기하 평균 형광 강도 (gMFI)를 플롯팅함으로써 세포 결합 곡선을 생성하였다. 값을 정규화하였으며, 최대 결합은 경쟁이 없는 샘플의 평균이고, 최소 값은 경쟁자 CD2-플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC)가 없는 샘플이었다. 각각의 PBMC 세포 하위세트에 대해 세포 결합 곡선을 생성하였다 (도 11). 그래프패드 프리즘® (버전 6.0, 그래프패드 소프트웨어, 인크., 캘리포니아주 샌디에고) 비선형-회귀 곡선 피트 및 길항제 용량-반응 모델의 S자형 로그를 사용하여 경쟁자의 IC<sub>50</sub> 값 (최대 반응의 50% 억제에서의 유효 농도)을 결정하였다.

[1341] MLR 검정

[1342] HLA 유전자형의 완전한 미스매치에 기초하여 동결된 PBMC의뱅크로부터 공여자를 선택하였다. CD3 및 CD56 양성 선택 키트를 사용하여 "자극제" 공여자로부터의 PBMC에서 T 세포 및 NK 세포를 고갈시켰다. 모든 NK 고갈 검정의 경우, CD56 양성 선택 키트를 사용하여 "반응자" 공여자로부터 NK 세포를 또한 고갈시켰다. 112500개 세포 또는 75 μl인 각각의 자극제 및 반응자 집단을 96-웰 U-바닥 플레이트의 웰에 첨가하였다. LFA3-Fc 단백질의 연속 희석물을 3x로 제조하고, 75 μl의 단백질을 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 37°C에서 5일 동안 인큐베이션하였다. 세포를 스핀 다운시키고, 형광-활성화 세포 분류 (FACS) 완충제 (2% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 세척한 다음, 15분 동안 면역-표현형결정 항체로 염색하였다. 하기 항체를 사용하였다: CD3 (BUV496), CD4 (BUV395), CD8 PerCp-e710, CD45RO PeCy7, CD45RA FITC, CD25 PE-CF594, CD56 BV421, CD2-PE, 및 근-IR 생존율. 유동 세포측정법 분석 직전에 각각의 웰에 10 μl의 카운트브라이트 비드를 첨가하였다.

[1343] CD4 기억, CD4 나이브, CD8 기억, CD8 나이브 및 CD56 NK 세포의 절대 수를 계산하였다. CD4 기억 집단에 대해 퍼센트 반응을 보고하고, 하기와 같이 계산하였다:

$$\% \text{반응} = 100 \times \frac{(\text{반응} - \text{비자극})}{(\text{자극} - \text{비자극})}$$

[1344]

[1345] 동종 반응의 퍼센트 역제를 100 마이너스 퍼센트 반응으로서 계산하였다. 값을 로그 LFA3-Fc 항체 농도에 대해 플롯팅하였다. 검정 반응을 기억 세포의 절대 수의 함수로서 결정하였다. 그래프패드 프리즘® (버전 6.0, 그래프패드 소프트웨어 인크., 캘리포니아주 샌디에고) 비선형-회귀 곡선 피트 및 효능제 용량-반응 모델의 S자형 로그를 사용하여 EC<sub>50</sub> 값을 결정하였다.

[1346] TT 회상 검정

[1347] 트리마 잔류물로부터 단리된 PBMC를 과상풍 독소이드 (아스타르트 바이올로지스(Astarte Biologics))에의 반응성에 대해 스크리닝하였다. 강한 양성 반응자를 TTR 검정에 사용하기 위해 추적하였다. 96-웰 U-바닥 플레이트에서, 웰당 200,000개의 PBMC를 100 μl로 플레이팅하였다. LFA3-Fc 폴리펩티드를 4x로 제조하고, 50 μl의 각각의 LFA3 단백질을 각각의 웰에 첨가하였다. 50 μl의 과상풍 독소이드 단백질 (1 μg/mL)을 각각의 웰에 첨가하고, 37°C에서 5일 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 16000 rpm에서 5분 동안 원심분리하였다. 125 μl의 상층액을 수집하여 ELISA를 통해 IFN γ 생산을 분석하였다. 세포를 스핀 다운시키고, FACS 완충제 (2% BSA를 함유하는 PBS) 중에서 세척한 다음, 15분 동안 면역표현형결정 항체로 염색하였다. 하기 항체를 사용하였다: CD3 (BUV496), CD4 (BUV395), CD8 PerCp-e710, CD45RO PeCy7, CD45RA FITC, CD25 PE-CF594, CD56 BV421, CD2-PE, 및 근-IR 생존율. 유동 세포측정법 분석 직전에 각각의 웰에 10 μl의 카운트브라이트 비드를 첨가하였다.

[1348] IFN γ의 농도를 사용하여 퍼센트 반응을 결정하였다. MLR 검정에 대해 상기 기재된 바와 같이 퍼센트 반응을

계산하였다. 기억 회상 반응의 퍼센트 억제를 100 마이너스 퍼센트 반응으로서 계산하였다. 값을 로그 LFA3-Fc 항체 농도에 대해 플롯팅하였다. 그래프패드 프리즘® (버전 6.0, 그래프패드 소프트웨어 인크., 캘리포니아주 샌디에고) 비선형-회귀 곡선 피트 및 효능제 용량-반응 모델의 S자형 로그를 사용하여 EC<sub>50</sub> 값을 결정하였다.

[1349] PK 검정

[1350] 표준 및 품질 대조군 (QC)을 시노물구스 원숭이 혈청에서 제조한 다음, 검정 완충제 (0.5M NaCl을 함유하는 사이텍 슈퍼블록) 중에 MRD에 대해 20배 희석하였다. 샘플을 또한 MRD에 따라 검정 완충제 중에 희석하였다. 5% 원숭이 혈청을 함유하는 검정 완충제 중에서 임의의 추가의 샘플 희석을 수행하고, 96-웰 PCR 플레이트 상에 로딩하였다. 비오티닐화 포획 항체 (항-LFA3, 인비트로젠, MA1-19503) 및 AF647-표지된 검출 항체 (당나귀 항-인간 IgG H+L, 잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 709-005-149)를 각각 50 µg/mL 및 1 µg/mL로 제조하고, 별개의 96-웰 PCR 플레이트 상에 로딩하였다. 처리 및 분석을 위해 기로랩 기기 상에 플레이트, 기로스 1000 CD 및 세척 완충제를 셋업하였다.

[1351] 결과

[1352] 시험관내 분석

[1353] T1D에서의 조직 파괴 및 병리상태의 주요 유도인자는 CD4+ T<sub>EM</sub> 세포이다. CD2가 모든 T 세포 상에서 발현되지만, CD2는 T<sub>EM</sub> 세포 상에서 가장 높은 수준으로 발현된다. CD2 발현은 TCR 활성화 후 추가 5배 증가된다. 인간 세포 상의 CD2 수준 (세포당 분자)이 도 9 및 10에 제시된다. M1d1 결합 (최대 gMFI)은 T 세포 상의 CD2 발현의 수준과 상관관계가 있다. M1d1은 FcR 결합 이펙터 기능을 갖는 IgG1 Fc를 갖는다. 시험관내 약리학을 하기를 통해 특장화하였다: i) 세포 결합 검정, ii) 1차 ADCC 검정, iii) 정제된 NK 세포 세포독성 검정, iv) 혼합 림프구 반응 (MLR)에서 동종 자극으로부터의 CD4 및 CD8 증식의 억제, 및 v) 과상표 독소이드를 사용하는 항원 회상 검정에서 CD4mem IFN $\gamma$  생산의 억제. 추가적으로, M1d1은 비-ADCC 의존성 작용 메커니즘을 가질 수 있다. 시험관내에서, 이는 MLR 검정으로부터의 NK 세포의 고갈, 뿐만 아니라 Fc-이펙터 기능 변이체 분자의 사용을 통해 입증되었다. 모든 시험관내 검정에서, M1d1을 벤치마크로서 WT LFA3-Fc 분자와 비교하였다. 추가의 대조군은 이소형 대조군 (mAb 음성 대조군, Fc 돌연변이 부재), 및 하기 검정 중 어떠한 것에서도 활성/억제를 갖지 않는 M1d1-Fc의 이펙터 기능 변이체 (eff null)를 포함하였다 (데이터는 제시되지 않음). 이론에 얽매이는 것을 원하지는 않지만, 이들 시험관내 검정은 CD2<sup>hi</sup> 기억 T 세포의 우선적인 표적화 및 후속 기억 세포 반응의 억제를 포함하는 M1d1의 작용 메커니즘을 평가하였다.

[1354] CD2 발현 분석

[1355] 모든 T 세포는 CD2를 발현한다. 그러나, 절대 발현은 상이한 세포 하위세트에서 상이하며, 기억 T 세포는 나이브 T 세포보다 더 큰 수준의 CD2를 발현한다 (도 9). B 세포는 CD2를 발현하지 않고, NK 세포는 불균질한 낮은 수준의 CD2를 발현한다. 활성화 후에, CD2 발현은 ~5배 증가한 다음, 1주 이내에 기저 수준으로 복귀하였다 (도 10). 이러한 발현 프로파일은 Treg 및 T나이브 세포를 보존하면서 CD2hi T<sub>EM</sub> 세포가 표적화될 수 있는 범위를 제공한다.

[1356] 인간 PBMC에서, CD2 분자의 정량화는 CD4 및 CD8 기억 세포 상에서 가장 많은 수의 분자를 나타냈으며, 구체적으로 CD4 중심 기억 세포 ("cen mem")는 평균 9220개의 분자를 발현하고; 인간 CD4 이펙터 기억 세포 ("eff mem")는 평균 11,000개의 분자를 발현하고; 인간 CD8 중심 기억 세포는 평균 11,800개의 분자를 발현하고; 인간 CD8 이펙터 기억 세포는 평균 10,000개의 분자를 발현하였다 (표 7, 도 9). 인간 CD8 기억 세포 내에서, 중심 기억 세포는 이펙터 기억 세포보다 더 많은 수의 분자를 가졌다 (p = <0.05). 인간 CD4 세포 내에서, 이펙터 기억 세포는 중심 기억 세포보다 더 많은 CD2 분자를 가졌다 (p = <0.05).

[1357] 표 7. 인간 PBMC에서의 림프구 하위세트에 대한 CD2 정량화

	<b>B 세포</b>	<b>NK 세포</b>	<b>CD4 나이브</b>	<b>Treg</b>	<b>CD4 중심 기억</b>	<b>CD4 이펙터 기억</b>	<b>CD8 나이브</b>	<b>CD8 중심 기억</b>	<b>CD8 이펙터 기억</b>
평균	28.6	1370	5280	6720	9220	11000	6510	11800	10000
SD	2.34	441	496	668	335	1070	472	912	919

[1358]  
[1359] Cen memory = 중심 기억; eff memory = 이펙터 기억; Treg = T 조절

[1360] 퀀티브라이트 분석을 사용하여 CD2 발현을 정량화하였다 (도 17). 인간에서와 같이, 시노물구스 기억 T 세포는 나이브 세포보다 세포당 더 많은 수의 CD2 분자를 발현한다. 인간이 아닌 시노에서, CD8+ 세포는 이중모드 CD2 발현을 가졌고, ~10-20%는 CD2 음성이었다. CD2 분자의 정량화는 CD4 및 CD8 기억 세포 상에서 가장 많은 수의 분자를 나타냈으며, 여기서 CD4 중심 기억 세포는 8,570개의 분자를 발현하고, CD4 이펙터 기억 세포는 8,140개의 분자를 발현하고, CD8 중심 기억 세포는 7,100개의 분자를 발현하고, CD8 이펙터 기억 세포는 5,880개의 분자를 발현하였다 (도 17, 표 8).

[1361] 표 8. 시노물구스 PBMC에서의 림프구 하위세트에 대한 CD2 정량화.

	<b>B 세포</b>	<b>NK 세포</b>	<b>CD4 나이브</b>	<b>Treg</b>	<b>CD4 중심 기억</b>	<b>CD4 이펙터 기억</b>	<b>CD8 나이브</b>	<b>CD8 중심 기억</b>	<b>CD8 이펙터 기억</b>
평균	42.1	374	5200	5730	8570	8140	4510	7100	5880
SD	11	121	1020	1360	2040	2470	945	1690	1890

[1362]  
[1363] 인간 및 시노 B 세포 둘 다에서 각각 28.6 및 42.1개의 분자로 CD2의 무시할만한 발현이 관찰되었다. 인간 나이브 CD8 및 CD4 세포 및 Treg는 각각 6,510, 5,280 및 6,720개의 분자를 가지며, 따라서 이는 인간 PBMC에서의 T 림프구 하위세트 내에서 CD2 분자의 가장 적은 수를 나타낸다. 시노 나이브 CD8 및 CD4는 각각 4,510 및 5,200개의 분자를 발현하며, 따라서 시노 T 세포 하위세트 내에서 가장 적은 수를 갖는다.

[1364] 인간 CD4 기억 세포 내에서, CD2 발현은 Klrp1-Tigit+PD1+ 세포에서 11,800 gMFI였으며, 이와 비교하여 Klrp1+ 세포에서는 17,000이었다 (도 25a-25b). Klrp1-Tigit+PD1+의 발현은 표현형상 무반응성인 T 세포를 확인하기 위한 것으로 제안되었다.

[1365] T 헬퍼 세포 하위세트 내에서, CD2 발현은 Treg 및 Th2 세포와 비교하여 염증성 Th17/Th1 및 Th22 세포에서 가장 높았다 (도 26a-26b).

[1366] 표 9. 인간 T 헬퍼 하위세트 상에서의 CD2 발현

	<b>TH2</b>	<b>Tfh 유사</b>	<b>Tfh CCR7+</b>	<b>Tfh CCR7+ PD1+</b>	<b>Treg</b>	<b>TH17/Th1</b>	<b>Th1</b>	<b>TH17</b>	<b>TH22</b>	<b>TH9</b>
평균	12500	11800	11900	11600	11600	19800	15000	16000	17500	18200
SD	3360	5740	6060	5260	2720	5310	5170	4120	5920	4600

[1367]  
[1368] CCR7 = C-C 케모카인 수용체 유형 7; PD1 = 프로그램화된 세포 사멸 단백질 1; TH = T 헬퍼; Tfh = T 여포성 헬퍼; Treg = T 조절

[1369] 인간 및 비-인간 영장류 PBMC에서, 모든 T 세포 하위세트는 CD2를 발현한다. T 세포 구획 내에서, 비-조절 기억 T 세포는 세포당 가장 많은 CD2 분자를 발현하며, 나이브 T 세포보다 세포당 대략 1.5-2배 더 많은 CD2 분자를 발현한다. 이들 결과는 중요한 세포 집단 (예를 들어, T 세포)이 LFA3-Fc M1d1 치료 펩티드의 표적을 발현한다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 또한 면역표현형결정을 사용하여 LFA3-Fc 폴리펩티드로의 치료를 위한 환자를 계층화할 수 있다는 것을 나타낸다.

[1370] LFA3-Fc 경쟁적 결합 분석

[1371] CD2에 대한 LFA3-Fc의 결합은 SPR에 의해 측정시 비교적 낮은 친화도 상호작용이다 (1 μM). 세척 엄격도가 테이터에 유의하게 영향을 미칠 수 있기 때문에, LFA3-Fc의 포화 1차 T 세포 결합을 달성하는 것은 어렵다. 따라서, 항-CD2 항체와의 경쟁적 결합 검정을 사용하여 T 세포 하위세트에 대한 M1d1의 결합 친화도를 확인하였다 (표 10 및 도 11). LFA3-Fc WT는 CD4 기억 세포 및 CD4 나이브 세포에 대해 각각 0.501 및 0.391 nM의 평균 결합 친화도를 나타냈다 (표 10). LFA3-Fc M1d1은 CD4 기억 세포 및 CD4 나이브 세포에 대해 각각 0.094 및 0.054 nM의 평균 결합 친화도를 나타냈다 (표 10). 이들 연구는 LFA3-Fc WT 및 LFA3-Fc M1d1이 CD2+ 세포 (예를 들어, CD4 기억 세포 및 CD4 나이브 세포)에 결합하고, LFA3-Fc M1d1이 LFA3-Fc WT보다 세포 표면 CD2에 대한 대략 5배 더 큰 친화도를 나타낸다는 것을 입증한다. 따라서, 이들 연구는 치료 폴리펩티드 LFA3-Fc M1d1이 표적 표면 마커 CD2에 대한 증가된 친화도를 나타낸다는 것을 입증한다.

[1372] 표 10. 항-CD2 항체와의 경쟁적 결합 검정을 사용하는 1차 인간 T 세포에 대한 LFA3-Fc 결합

T 세포 하위세트	RPA2.10에 대한 계산된 Kd (nM)	계산된 IC <sub>50</sub> (nM)		계산된 K <sub>d</sub> (nM)	
		WT	M1d1	WT	M1d1
CD4 기억	23.7	2.32	0.55	0.623	0.148
CD4 기억	23.7	1.29	0.25	0.345	0.068
CD4 기억	42.0	0.95	0.12	0.535	0.067
<b>CD4 기억 평균</b>		<b>1.52</b>	<b>0.307</b>	<b>0.501</b>	<b>0.094</b>
CD4 EM	34	1.20	0.15	0.616	0.079
CD4 CM	44.7	0.88	0.11	0.514	0.064
CD4 나이브	18.2	1.45	0.22	0.319	0.047
CD4 나이브	23.8	1.09	0.14	0.463	0.061
<b>CD4 나이브 평균</b>		<b>1.27</b>	<b>0.18</b>	<b>0.391</b>	<b>0.054</b>
CD8 나이브	14.8	0.71	0.09	0.222	0.030
CD8 나이브	31.0	2.80	0.51	0.906	0.166
<b>CD8 나이브 평균</b>		<b>1.76</b>	<b>0.3</b>	<b>0.564</b>	<b>0.098</b>
CD8 기억	11	0.59	0.12	0.151	0.031
CD4 Treg (확장됨)	67.9	0.50	0.09	0.339	0.058

[1373] EM = 이펙터 기억; CM = 중심 기억

[1375] MLR 검정

[1376] 혼합 림프구 반응 (MLR) 반응은 동종 자극에 대한 CD4+ 및 CD8+ T 세포 반응 (예를 들어, 확장)을 평가하고, 자극 시에 나이브 상태였던 세포에 의한 반응을 포함한다. 이는 보다 복잡한 기능적 반응이고 ADCC 외의 메카니즘의 평가를 가능하게 한다. M1d1은 동종 자극에 반응한 CD4+ T 세포 (도 14a) 및 CD8+ T 세포 (테이터는 제시되지 않음)의 확장을 완전히 억제하였고, WT LFA3-Fc보다 더 강력하였다 (도 14a 및 14b).

[1377] M1d1이 NK-매개 세포 사멸에 추가로 작용 메카니즘을 갖는지 여부를 시험관내에서 평가하기 위해, NK 세포를 MLR 검정으로부터 고갈시켰다. M1d1은, IC50이 증가되긴 하였지만, MLR에서 NK 세포의 부재 하에서도 CD4+ T 세포 확장을 억제하였다 (도 15a-15c). CD16 결합이 결여된 LFA3-Fc 이펙터 기능 변이체 (ADCC와 연관된 FcR)가 또한 동종 반응을 억제할 수 있다는 것을 보여주는 추가의 지지 데이터가 생성되었다 (테이터는 제시되지 않음). 이는 LFA3-Fc와 연관된 비-NK 세포 의존성 작용 메카니즘과 일치한다.

[1378] 이들 연구는 치료 폴리펩티드 LFA3-Fc M1d1이 동종 MLR 검정에서 T 세포 반응을 억제하고, LFA3-Fc M1d1이 LFA3-Fc WT의 시험관내 효능에 비해 개선된 효능을 갖는다는 것을 입증한다.

[1379] TTR 검정

[1380] 기존 기억 세포 반응의 억제를 평가하기 위해, 과상풍 특소이드 (TT) 반응성 공여자 PBMC를 생체의 TT로 자극하였다. M1d1은 TT 특소이드에 반응하여 생체의 항원 특이적 기억 세포 확장 및 시토카인 분비 (IFNγ)를 완전히 억제하였다 (도 16a 및 16b). WT LFA3-Fc는 이러한 반응을 억제하는데 있어서 M1d1보다 덜 강력하였다 (도 16a 및 16b). 이들 연구는 치료 폴리펩티드 LFA3-Fc M1d1이 TTR 검정에서 T 세포 반응을 억제하고, LFA3-Fc M1d1이 LFA3-Fc WT의 시험관내 효능에 비해 개선된 효능을 갖는다는 것을 입증한다.

- [1381] 실시예 3: 생체내 분석
- [1382] 인간 LFA3은 설치류 CD2에 결합하지 않지만, 비-인간 영장류 CD2에 결합한다. 비-인간 영장류를 사용하여 알레 파셉트 치료로부터의 면역-조정 및 기억 T 세포 고갈을 평가하였다 (Weaver, et al. (2009) Nat Med. 15(7):746-749).
- [1383] 시노몰구스 원숭이에서 M1d1을 사용하여 2가지 연구를 수행하였다: 제1 연구는 단일 용량 조사 연구였다 (17-MA005). 제2 연구인 17MA057은 용량 반응 관계, 단일 및 반복 용량 효과, 및 이환 세포의 회복의 이해를 돕기 위해 광범위한 면역-표현형 분석으로 설계된 반복 용량 PK/PD 연구이다. WT LFA3-Fc를 사용한 병행 용량 반응을 포함시켰다. 암컷 원숭이에서는 주목할 만한 차이가 관찰되지 않았기 때문에, 분석을 위해 수컷 및 암컷으로부터의 데이터를 합하였다.
- [1384] 8-주 관찰기에서의 단일 용량 IV 탐색적 독성 연구 (17MA005)
- [1385] 시노몰구스 원숭이에게 제1일에 1회 IV 볼루스 주사를 통해 비히클 대조군 또는 0.3 mg/kg 또는 100 mg/kg의 용량의 LFA3-Fc M1d1을 투여하였다. 시험 물품-관련 사망률 및 임상 징후는 관찰되지 않았다. 0.3 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1이 투여된 동물에서 평가된 임의의 세포 유형에서 시험 물품-관련 변화는 없었다. 일부 림프구 하위세트에서의 시험 물품-관련 변화는 100 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1이 투여된 수컷 및 암컷 원숭이 둘 다에서 관찰되었으며 (표 12), 모든 세포 하위세트는 제57일 또는 그 전에 기준선 값으로 복귀하였다. 종합하면, 100 mg/kg에서의  $C_{max}$  및  $AUC_{last}$  (1-1368시간) 값은 각각 3590  $\mu\text{g/mL}$  및 238,00  $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 였다. 항-약물 항체 유도의 발생률은 0.3 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1이 투여된 동물의 경우 66% (2/3) 및 100 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1이 투여된 동물의 경우 50% (1/2)였다.
- [1386] 제-14일, 제1일 (투여전), 제2일, 제4일, 제8일, 제15일, 제29일, 제43일 및 제57일에 말초 혈액 샘플을 수집하였다. 각각의 림프구 하위세트의 백분율을 유동 세포측정법에 의해 결정하였다. 100 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1의 투여는 적어도 1마리 동물의 말초 혈액 내의 총 T 세포, 헬퍼 T 세포 및 세포독성 T 세포의 수를 기준선으로부터 시험 물품-관련하여 일시적으로 감소시켰다. T 헬퍼 세포 및 T 세포독성 세포의 나이브, 중심 및 이펙터 기억 하위세트의 수가 또한 감소되었다. CD25 Foxp3 T 헬퍼 (T 조절) 세포의 수 및 PD-1+ T 세포독성 세포의 수 및 백분율 둘 다의 감소가 또한 관찰되었다. 모든 하위세트에 대한 이들 감소의 범위는 0.01-0.37x이었다. 이들 감소의 대부분은 제15일 및/또는 제29일에 관찰되었다. 모든 세포 하위세트는 제57일 또는 그 전에 기준선 값으로 복귀하였다. B 세포 및 NK 세포의 수, 또는 PD-1+ T 헬퍼 세포 또는 PD-1+ 이펙터 또는 중심 기억 T 헬퍼 및 T 세포독성 세포의 백분율에 있어서 시험 물품-관련 변화는 없었다. 0.3 mg/kg의 LFA3-Fc M1d1이 투여된 동물에서 평가된 임의의 세포 유형에서 시험 물품-관련 변화는 없었다.
- [1387] 시노몰구스 원숭이 PBMC를 M1d1 또는 WT LFA3-Fc 단백질과 함께 생체의 인큐베이션하고, 유동 세포측정법을 사용하여 세포독성을 평가하였다. M1d1은 시험관내에서 용량 의존성 CD4+  $T_{EM}$  세포독성을 유도하였다. M1d1은 WT LFA3-Fc와 대등한 최대 세포독성을 달성하였고, WT LFA3-Fc 분자보다 더 강력하였다 (도 18a 및 18b). 종합하면, 시노 세포에 대한 EC50은 인간 PBMC보다 더 높았다.
- [1388] 6-주 관찰기에서의 4-주 IV 볼루스 PK/PD 연구 (17MA057)
- [1389] 17MA057의 실험 설계가 도 19에 제시된다. 시노몰구스 원숭이에게 제1일, 제8일, 제15일 및 제22일에 IV 볼루스 주사를 통해 0.03, 0.3 또는 3 mg/kg/용량 LFA3-Fc M1d1 또는 LFA3-Fc WT를 투여하고 (즉, 4주 동안 매주 1회), 이후 6-주 관찰기가 이어졌다. 혈액 샘플을 투여 개시 전에, 투여일에 및 관찰기 동안 제36일, 제43일, 제50일, 제57일, 제64일 및 제71일에 모든 동물로부터 수집하였다. 각각의 림프구 하위세트의 백분율을 유동 세포측정법에 의해 결정하였다. LFA3-Fc M1d1 또는 LFA3-Fc WT의 투여 후 림프구 하위세트의 변화의 결정은 총 T 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, NK 세포, B 세포, CD4+ 및 CD8+ 나이브, 중심 및 이펙터 기억 T 세포 및 조절 T 세포로 제한되었다. 절대 세포 수 및 기준선 값에 대한 비를 사용하여 변화를 결정하였다.
- [1390] LFA3-Fc M1d1이 투여된 동물에 대해 기준선과 비교하여 B 세포 및 NK 세포의 수의 변화가 관찰되었다. B 세포는 0.3 (1.37x-1.94x 기준선), 0.3 (1.41x 기준선) 또는 3 (1.50x-2.92x 기준선) mg/kg/용량이 투여된 동물에 대해 증가하였고, NK 세포는 1일 이상의 투여일에서 투여후 6시간에 우세하게  $\geq 0.03$  mg/kg/용량 (0.27x-0.44x 기준선)으로 감소하였다. B 세포 및 NK 세포의 변화는 대부분의 동물에 대해 투여후 24시간까지 기준선 값으로 복귀하는 경향이 있었다.
- [1391] M1d1의 반복 투여는 말초 CD4+  $T_{EM}$  세포를 감소시켰다 (도 20a 및 34a). Treg는 M1d1에 의해 비교적 보존되어,

Treg/T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다 (도 20b 및 34b). CD8+ T<sub>EM</sub> 세포도 감소하였다. T<sub>나이프</sub>에 대한 효과가 최소화였다. 회복기가 완료되었고, 회복 경향 또는 새로운 기준선의 확립이 제57일까지 명백하였다.

[1392] 총 T 세포 수에 대한 M1d1의 전체 영향은 비교적 보통이고 (3 mg/kg에서 <50% 감소), 면역-억제와 연관된 한계 값을 충족시키지 않는다 (도 21). B 세포는 처리에 의해 감소되지 않았다 (제시되지 않음). M1d1은 생체내에서 CD2hi T<sub>EM</sub> 세포를 우선적으로 표적화한다 (도 21).

[1393] 상기 언급된 바와 같이, 벤치마크로서 사용하기 위한 WT LFA3-Fc를 사용한 병행 용량 반응을 연구 17MA057에 포함시켰다. 시노에서의 WT LFA3-Fc의 반복 투여는 CD4 EM 세포를 감소시키고, Treg/CD4+ T<sub>EM</sub>의 비를 증가시켰다 (도 22a 및 22b 및 도 35a 및 35b).

[1394] NHP 반복-용량 연구 데이터 (4주 동안 0.03, 0.3 또는 3 mg/kg의 매주 투여, 이어서 6주의 회복 기간) (도 23a 및 23b)를 2 구획 PK 모델에 피팅함으로써 M1d1 및 WT LFA3-Fc에 대한 NHP PK 파라미터를 결정하였다. 문헌으로부터의 임상 평균 데이터 (0.04, 0.15 및 0.2 mg/kg의 단일-용량 (IV/IM/ SC))를 수치화하고 이들을 2 구획 PK 모델에 피팅함으로써 알레파셉트에 대한 인간 PK 파라미터를 도출하였다. 이들 PK 파라미터가 하기 표 11에 제시된다. M1d1의 클리어런스는 WT LFA3-Fc보다 2배 더 느리다.

[1395] LFA3-Fc M1d1의 효과적인 용량 추정치를 평가하였다. 근육내로 투여된 알레파셉트 대비 피하 경로를 통한 LFA3-Fc M1d1의 유사한 흡수 및 알레파셉트와 비교하여 LFA3-Fc M1d1의 추정된 2x 더 낮은 클리어런스를 가정하면, LFA3-Fc M1d1의 7.5 mg의 매주 sc 용량이 인간에서 효과적일 것이다.

[1396] 표 11. M1d1 및 WT LFA3-Fc의 PK 파라미터

PK 파라미터	LFA3-Fc WT 원숭이 (%CV)	LFA3-Fc M1d1 원숭이 (%CV)	알레파셉트 인간 %CV*	LFA3-Fc M1d1 인간 %CV**
흡수율 (Ka) (1/hr)			0.023 (7)	
생체이용률 (F) (%)			59 (5)	
중심 부피 (V1) (mL/kg)	37 (9)	32 (5.0)	49 (6)	32 (5)
말초 부피 (V2) (mL/kg)	34(15)	27 (8)	27 (10)	27 (8)
중심으로부터의 클리어런스 (Cl) (mL/hr*kg)	0.24(4)	0.11 (6)	0.21 (6)	0.11 (6)
분포 클리어런스 (Q) (mL/hr*kg)	0.67(32)	0.70 (10)	0.85 (45)	0.70 (10)

[1397]

[1398] \* 공개된 데이터에 기초함; \*\* 예측됨

[1399] M1d1-관련 유해 사건은 원숭이에서의 단일 용량 조사 독성 연구에서 관찰되지 않았다. T 림프구의 감소는 100 mg/kg의 M1d1이 투여된 동물에서의 유일한 시험 물품-관련 변화였고, 후속적으로 제57일까지 회복되었다. 알레파셉트를 사용한 공개된 데이터에 기초하여, 독성의 표적은 단지 CD2 양성 림프구의 중간 정도 내지 현저한 고갈 및 관련 면역억제와 연관된 것으로 예상되는 것이다. M1d1 독성학 연구의 개관이 표 12에 제공된다.

[1400] 표 12. M1d1 독성학 연구의 개관

연구	결과
관련 독성 종 확인	서열 상동성 (단백질): 원숭이 (>94%), 개 (60%), 래트 (57%), 마우스 (52%). 비야코어 CD2 결합: 마우스, 래트 또는 개에 대한 인지가능한 결합 없음, 인간 및 시노 CD2에 대한 결합: Hu CD2 Kd (M): 1.10E-6; 시노 CD2 Kd (M): 1.35E-6. MOA의 일부로서 의도된 ADCC 이펙터 기능을 가짐. 최소 CDC 효과 (표적 세포의 <10% 퍼센트가 사멸됨).
인간 CRA (0.1, 1, 10, 100 µg/mL)	TNF-α, IFN-γ 및 IL-6을 측정함. 8명의 건강한 인간 공여자로부터의 혈액 샘플과 함께 인큐베이션한 후 가용성 상 CRA에서 의미있는 시토카인 방출 없음.
원숭이 TK 연구 (0.3 및 100 mg/kg) 17MA005	100 mg/kg에서 시험 물질-관련 임상 징후, 체중 또는 음식물 소비 효과가 관찰되지 않음 (> 400X 안전성 한계 <sup>a</sup> ). 100 mg/kg에서 기준선 값과 비교하여 면역표현형결정의 시험 물질-관련 변화가 관찰됨. 수컷: B 세포 및 NK 세포를 제외한 모든 세포 유형의 절대 수의 일시적 ↓. 암컷: T 세포독성 PD1+, T 조절 세포, T 세포독성 중심 및 이펙터 세포, T 헬퍼 중심 및 이펙터 PD1+ 세포뿐만 아니라 T 세포독성 중심 및 이펙터 PD1+ 세포의 일시적 ↓.
원숭이 PK/PD 연구 (0.03, 0.3 및 3 mg/kg) 17MA057	모든 용량 수준에서 시험 물질-관련 임상 징후, 체중 또는 음식물 소비 효과가 관찰되지 않음. 3 mg/kg/용량에서 M1d1의 평균 C <sub>max</sub> 및 AUC <sub>168</sub> 은 제22일에 181 µg/mL 및 16,400 µg*h/mL이었음. <sup>b</sup>

[1401]

[1402] <sup>a</sup> 한계는 PK/PD 연구 (17MA057)로부터 예측된 효과적인 노출에 기초한 추정치이다:

[1403] M1d1에 대한 효과적인 용량에서의 AUC<sub>ss</sub>에 대한 예측 범위는 16 내지 550 µg\*일/mL이고, 용량 범위는 0.22 - 7.5 mg이다.

[1404] <sup>b</sup> C<sub>max</sub> = 혈청에서 관찰된 최고 약물 농도; AUC<sub>168</sub> = 투여후 0-168의 시간-약물 농도 곡선하 면적.

[1405] 실시예 4: LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 생물물리학적 특징화 및 안정성 연구

[1406] LFA3-Fc M1d1 ("LFA3-Fc M1-d1", "M1d1", "M1-d1" 또는 "M1d1-Pfe"로도 공지됨) 및 LFA3-Fc WT ("WT LFA3-Fc"로도 공지됨)를 비교 제조성 특성을 예측하기 위해 생물물리학적 특성 및 안정성에 대해 특징화하였다.

[1407] 열안정성 평가

[1408] 트리스 완충제, pH 7.5, 히스티딘 완충제, pH 5.8 및 글루타메이트 완충제, pH 4.5 중에서 DSC (시차 주사 열량 측정법)에 의해 LFA3-Fc M1d1의 열안정성을 평가하였다. 단백질은 히스티딘 및 트리스 완충제 중에서 65°C 초과의 전이 온도 (T<sub>M1</sub>)를 나타냈다 (표 13 및 도 27).

[1409] 표 13. LFA3-Fc M1d1에 대한 열 전이 온도

샘플	T <sub>M1</sub>	T <sub>M2</sub>
LFA3-Fc M1d1 트리스 pH 7.5	66.64	83.55
LFA3-Fc M1d1 His pH 5.8	65.08	82.99
LFA3-Fc M1d1 Glu pH 4.5	61.29	80.72

[1410]

[1411] LFA3 도메인 및 Fc 도메인 (CH2 및 CH3)의 개별 분석을 위해, 샘플을 37°C에서 30분 동안 패브리케이터 IdeS (제노비스 아베(Genovis AB), 매사추세츠주 캄브리지)로 처리하였다. LFA3 도메인 ("LFA3 단편"으로도 지칭됨)은 Fc 단편의 CH2 도메인의 열 전이 온도에 근접한 열 전이 온도를 나타냈다 (도 28).

[1412] LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 열안정성을 DSC를 사용하여 비교하였다. LFA3-Fc WT는 LFA3-Fc M1d1에 비해 모

는 조건 하에 더 낮은 열 언폴딩 안정성을 가졌다. LFA3-Fc WT의 열 언폴딩 안정성은 항체에 대한 표적 온도 (예를 들어,  $T_M \geq 65^\circ\text{C}$ )보다 유의하게 더 낮았다 (표 14).

[1413] 표 14. LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT에 대한 열 전이 온도

조건	샘플	$T_M$
트리스 pH 7.5	LFA3-Fc M1d1	66.3
	LFA3-Fc WT	59.7
히스티딘 pH 5.8	LFA3-Fc M1d1	64.01
	LFA3-Fc WT	60.9
글루타메이트 pH 4.5	LFA3-Fc M1d1	61.4
	LFA3-Fc WT	56.4

[1414]

[1415] LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 열안정성을 상기 기재된 바와 같이 DSC에 이어 패브리케이터 IdeS를 사용하여 비교하였다. 소화된 LFA3 도메인 및 Fc 도메인 (CH2 및 CH3)을 또한 별도로 분석하였다. M1d1 LFA3 도메인/CH2 도메인은 WT LFA3 도메인/CH2 도메인보다 유의하게 더 큰 열 언폴딩 안정성을 가졌다 (각각  $64.8^\circ\text{C}$  대  $52.2^\circ\text{C}$ ) (표 15).

[1416] 표 15. LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT 도메인에 대한 열 전이 온도

	LFA3/CH2	LFA3	CH2	CH3
LFA3-Fc M1d1	66.8		-	82.3
M1d1 Fc	-		73.4	80.7
M1d1 LFA3		64.8	-	-
LFA3-Fc WT	53.2		67	83.2
WT Fc	-		73.4	81.7
WT LFA3		52.2	-	-

[1417]

[1418] 전하 이중성

[1419] LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 전하 이중성을 등전 모세관 전기영동에 의해 다음 3가지 조건 하에 평가하였다: 20 mM 트리스 pH 7.5, 20 mM 히스티딘 pH 5.8 및 20 mM 글루타메이트 pH 4.5. 두 분자는 15-18개의 상이한 종을 포함하는 복잡한 전하 프로파일을 나타냈다 (도 29a-29c). LFA3-Fc WT 및 M1d1 둘 다의 이중성 (>20 pI 종)은 6개의 LFA3-Fc N-연결된 글리칸 부위 상의 산성 시알산 변형을 반영한다. LFA3-Fc M1d1과 비교하여 LFA3-Fc WT 화합물의 더 낮은 분해가 관찰되었다.

[1420] 안정성

[1421] LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 안정성을 2, 4 또는 6주에 걸친 시간 경과 연구에서 평가하였다. 샘플을 30K 분자량 컷-오프 재생 셀룰로스 필터 (아미콘(Amicon))를 사용하는 원심분리 한외여과/투석여과에 적용하였다. 25  $\mu\text{l}$  또는 100  $\mu\text{l}$ 의 각각의 폴리펩티드 제제 (표 16)를 500  $\mu\text{l}$  크리오바이알에 충전시켰다. 연구 조건은 표 16에 제공된다.

[1422] 표 16. 안정성 연구 조건

폴리펩티드 농도 (mg/mL)	제제	온도	시간 (주)
150	20 mM 트리스 pH 7.5 8.5% 수크로스 0.05 mg/mL EDTA	5°C 또는 25°C	2, 4, 6
150	20 mM 히스티딘 pH 5.8 8.5% 수크로스 0.05 mg/mL EDTA	5°C 또는 25°C	2, 4, 6
150	20 mM 글루타메이트 pH 4.5 8.5% 트레할로스 0.05 mg/mL EDTA	5°C 또는 25°C	2, 4, 6
5	20 mM 트리스 pH 7.5	40°C	2, 4
5	20 mM 히스티딘 pH 5.8	40°C	2, 4
5	20 mM 글루타메이트 pH 4.8	40°C	2, 4

[1423]

[1424] 모세관 겔 전기영동.

[1425]

폴리펩티드를 저분자량 중 (LMMS)의 백분율의 증가에 의해 제시되는 단편화에 대해, 비-환원 조건 (NR) 하에서 모세관 겔 전기영동 (CGE)에 의해 2, 4 및 6주에 분석하였다. LFA3-Fc M1d1과 비교하여 40°C에서 LFA3-Fc WT의 단편화의 유의한 증가가 있었다 (도 30a-30c). 25°C에서, LMMS의 증가된 백분율 경향이 LFA3-Fc WT 샘플에서 관찰되었지만, LFA3-Fc M1d1 샘플에서는 LMMS의 백분율의 증가가 없었다 (데이터는 제시되지 않음). LFA3-Fc WT 또는 M1d1에 대해 5°C에서 LMMS의 백분율의 유의한 변화는 없었다 (데이터는 제시되지 않음). 각각의 완충제 제제 중 LFA3-Fc M1d1의 안정성은 유사하였다. 그러나, LFA3-Fc WT는 히스티딘 또는 글루타메이트와 비교하여 트리스 중에 제제화된 경우에 유의하게 더 안정하였다.

[1426]

LFA3-Fc WT 제제는 환원 및 비-환원 조건 하에 ~97% 순수하였다. LFA3-Fc M1d1 제제는 환원 및 비-환원 조건 하에 ~99% 순수하였다.

[1427]

크기 배제 크로마토그래피

[1428]

폴리펩티드를 40°C에서 2 또는 4주 동안 저장한 후 크기 배제 고성능 액체 크로마토그래피 (SE-HPLC)에 의해 분석하였다 (도 31a-31d). 제0주와 비교하여 및 글루타메이트 완충제 중에 제제화된 LFA3-Fc M1d1와 비교하여 제2주 및 제4주에 LFA3-Fc WT 글루타메이트 제제에서 고분자량 중 (HMMS)의 백분율의 증가에 의해 제시된 바와 같은 응집의 유의한 증가가 있었다 (도 31c). 또한 글루타메이트 또는 히스티딘 완충제 중에 제제화된 LFA3-Fc WT에서 LMMS 형성의 현저한 증가가 있었다 (도 31d). LFA3-Fc M1d1 히스티딘 및 글루타메이트 제제에서 4주에 LMMS의 2-3% 증가가 관찰되었다 (도 31d).

[1429]

폴리펩티드를 25°C에서 2, 4 또는 6주 동안 저장한 후 SE-HPLC에 의해 분석하였다 (도 32a-32d). LFA3-Fc M1d1 제제와 비교하여 LFA3-Fc WT 제제에서 더 높은 출발 백분율의 HMMS가 검출되었다. HMMS의 1-2% 증가가 LFA3-Fc M1d1 제제에서 검출된 반면, HMMS는 LFA3-Fc WT 제제에서 2-10%만큼 증가하였다. HMMS의 백분율의 가장 유의한 증가 (~10%)는 글루타메이트/트레할로스 완충제 중에 제제화된 LFA3-Fc WT에서 검출되었다 (도 32c). LMMS의 유의한 증가는 LFA3-Fc M1d1의 어떠한 제제에서도 관찰되지 않은 반면, LMMS의 ~7%의 증가는 히스티딘/수크로스 완충제 및 글루타메이트/트레할로스 완충제 중에 제제화된 LFA3-Fc WT에서 6주에 검출되었다 (도 32d).

[1430]

폴리펩티드를 5°C에서 2, 4 또는 6주 동안 저장한 후 SE-HPLC에 의해 분석하였다 (도 33a-33d). LFA3-Fc M1d1 제제와 비교하여 LFA3-Fc WT 제제에서 더 높은 출발 백분율의 HMMS가 검출되었다 (도 33a-33c). HMMS 백분율의 가장 유의한 증가는 6주 동안 저장한 후 글루타메이트/트레할로스 완충제 중에 제제화된 LFA3-Fc WT에서 검출되었다 (~2.8% 증가) (도 33c).

[1431]

종합하면, LFA3-Fc M1d1은 시험된 모든 조건 하에서 LFA3-Fc WT와 비교하여 단편화에 대해 우수한 안정성을 나타냈다. 특히, LFA3-Fc WT는 시험된 제제에서 낮은 pH에서 유의한 불안정성을 나타냈다. LFA3-Fc WT 응집률은 트리스 및 히스티딘 완충제 중에서 40°C와 비교하여 25°C에서 더 높았으며, 이는 농도 의존성 또는 부형제 비상

용성을 나타낼 수 있다.

- [1432] 용해도
- [1433] LFA3-Fc WT의 용해도를 pH 4.5에서 글루타메이트, 트레할로스 및 EDTA를 포함하는 완충제 중에서 165 mg/mL까지 시험하였다. LFA3-Fc M1d1의 용해도를 pH 4.5에서 글루타메이트, 트레할로스 및 EDTA를 포함하는 완충제 중에서 148 mg/mL까지 시험하였다.
- [1434] 글리칸 분석
- [1435] LFA3-Fc WT 및 LFA3-Fc M1d1 폴리펩티드 둘 다는 항체 Fc 도메인에 특징적인 N-글리칸을 포함하였다. WT 폴리펩티드의 LFA3 도메인은 고분지형 글리칸 및 대략 22 nmol 시알산/nmol LFA3-Fc WT 폴리펩티드를 포함하였다. M1d1 폴리펩티드의 LFA3 도메인은 또한 고분지형 글리칸 및 대략 14 nmol 시알산/nmol LFA3-Fc M1d1 폴리펩티드를 포함하였다.
- [1436] 실시예 5: LFA3-Fc M1d1의 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)
- [1437] 인간 T 세포에 대한 LFA3-Fc M1d1 및 LFA3-Fc WT의 시험관내 ADCC를 본 연구에서 특징화하였다. CD2는 모든 T 세포 상에서 발현되고, 나이브 또는 조절 T 세포와 비교하여 기억 T 세포 상에서 가장 크게 발현된다. LFA3-Fc는 CD2에 결합하고, 주요 작용 메커니즘은 ADCC이다.
- [1438] 이 연구는 LFA3-Fc M1d1이 LFA3-Fc WT보다 기억 CD4 세포의 ADCC를 유도하는데 3-4배 더 강력하다는 것을 입증하였다. 또한, LFA3-Fc M1d1은 나이브 T 세포와 비교하여 기억 CD4+ T 세포를 우선적으로 표적화하였다.
- [1439] 방법
- [1440] PBMC ADCC 검정 및 유동 세포측정법
- [1441] 셉메이트(SepMate)<sup>TM</sup> 튜브 및 림포프랩(Lymphoprep)<sup>TM</sup>을 제조업체의 지침서에 따라 (스텝셀 테크놀로지스, 워싱턴주 터킬라)에 따라 사용하여 밀도 구배 원심분리에 의해 건강한 인간 공여자로부터 PBMC를 분리하였다. 분리 후에, PBMC를 둥근-바닥 96-웰 플레이트에 웰당  $2.0 \times 10^5$  개 세포의 밀도로 완전 RPMI 배지에 플레이팅하였다. 이 검정에서, PMBC는 자연 킬러 (NK) 이펙터 세포 및 표적 T-세포 (CD4 기억 및 비-기억, CD8 기억 및 비-기억)의 공급원이다. 기억 및 비-기억 세포는 CD45RO 발현에 기초하여 구별하였다 (기억 세포는 CD45RO+이고; 비-기억 세포는 CD45RO-임). LFA3-Fc 융합 단백질의 연속 희석물을 웰에 첨가하고, 세포를 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 대략 20시간 동안 인큐베이션하였다.
- [1442] 플레이트를 실온 (RT)에서 5분 동안 300 X g (중력)로 원심분리하였다. PBMC를 빙냉 형광-활성화 세포 분류 (FACS) 완충제로 세척하고, 림프구 하위셋을 염색하기 위한 형광-접합된 항체를 함유하는 50 µL의 빙냉 FACS 완충제 중에 재현탁시켰다. 염색 패널은 다음을 포함하였다: CD3 (BUV496), CD4 (BUV395), CD8 (PerCP-e710), CD45RO (PeCy7), CD45RA (FITC), CD25 (PE-CF594), CD56 (BV421), CD2 (PE), 및 근적외선 (IR) 생존율.
- [1443] 4°C에서 15-30분 동안 인큐베이션한 후에, PBMC를 빙냉 FACS 완충제로 2회 세척하고, PBS 중 0.5% 파라포름알데히드 (PFA) 100 µL 중에 재현탁시켰다. 카운트브라이트(CountBright)<sup>TM</sup> 절대 계수 비드 (써모 피셔 사이언티픽)를 각각의 웰에 첨가하였다 (10 µL). 플레이트를 유동 세포측정법 (BD LSR포르테사(LSRFortessas)<sup>TM</sup> 세포 분석기)에 의해 분석하였다.
- [1444] NK 적정 세포독성 검정
- [1445] 새로 분리된 PBMC를 완전 RPMI + 10% FBS 중에서  $5 \times 10^6$  개 세포/ml로 밤새 휴지시켰다. 다음날 스텝셀 테크놀로지스로부터의 분리 키트를 사용하여 표적 세포 (CD4 기억, CD4 나이브 또는 B 세포)를 분리하였다. 동일한 공여자로부터의 상응하는 자연 킬러 (NK) 세포를 또한 분리하였다. 50 µL의 부피의 표적 세포를 96-웰 V-바닥 플레이트에 30,000개 세포/웰로 플레이팅하였다. NK 세포를 2배 연속 희석물로 제조하고, 50 µL를 표적 세포에 첨가하였다. LFA3-Fc 폴리펩티드를 100 nM의 최종 작용 농도를 위해 10x로 제조하였다. 11 µL의 부피의 폴리펩티드를 적절한 웰에 첨가하고, 플레이트를 37°C에서 4시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 세척하고, 30분 동안 아빅신 V 알렉사 플루오르 488, 7-AAD, CD56 BV421 및 CD4 APH-H7을 함유하는 염색 완충제로 염색하였다. 세포를 아빅신 V 결합 완충제로 세척하고, 10분 동안 PBS 중 2% PFA로 고정시키고, 세척한 다음, 유동 세포측정법에 의해 분석하였다. 카운트브라이트 비드를 각각의 웰에 포함시켜 절대 수를 결정하였다.

[1446] 데이터 분석

[1447] 로그 LFA3-Fc 폴리펩티드 농도에 대해 항원 결합 집단의 세포독성의 백분율을 플롯팅함으로써 세포독성 적정 곡선을 생성하였다. 비처리 대조군들 사이의 살아있는 세포의 절대 수의 차이 마이너스 실험 샘플을 비처리 대조군으로 나누고 100을 곱하여 세포독성의 백분율을 계산하였다. 비처리 대조군들 사이의 살아있는 세포의 절대 수의 차이 마이너스 실험 샘플을 비처리 대조군들 사이의 차이 마이너스 이소형 대조군으로 나누고 100을 곱하여 퍼센트 특이적 세포독성을 계산하였다. 그래프패드 프리즘® (버전 6.0, 그래프패드 소프트웨어, 인크., 캘리포니아주 샌디에고) 비선형-회귀 곡선 피트 및 효능제 용량-반응 모델의 S자형 로그를 사용하여 최대 반응의 50%에서의 유효 농도 (EC<sub>50</sub>) 값을 결정하였다.

[1448] 결과

[1449] LFA3-Fc WT 및 LFA3-Fc M1d1은 시험된 모든 세포 유형에서 ADCC를 유도하였다. LFA3-Fc M1d1은 LFA3-Fc WT와 비교하여 기억 및 비-기억 세포에서 증가된 ADCC 효력을 입증하였다 (표 17, 도 12a-12e).

[1450] 표 17. LFA3-Fc 폴리펩티드에 의한 ADCC의 유도

세포 유형	LFA3-Fc M1d1 EC <sub>50</sub> (nM)		LFA3-Fc WT EC <sub>50</sub> (nM)	
	평균	SEM	평균	SEM
CD4 CD45RO+ 기억 세포	0.348	0.098	1.559	0.425
CD4 CD45RO- 비-기억 세포	1.256	0.446	4.466	2.447
CD8 CD45RO+ 기억 세포	0.716	0.116	57.2	55.2
CD8 CD45RO- 비-기억 세포	0.787	0.279	49.7	47.3

[1451]

[1452] 각각의 세포 유형에 대해 n=5

[1453] LFA3-Fc WT 및 LFA3-Fc M1d1은 나이브 세포 또는 B 세포와 비교하여 높은 수준의 CD2를 발현하는 단리된 기억 세포의 우선적 사멸을 유도하였다.

[1454] 표 18. NK 세포독성

세포 유형	최대 세포독성 (%)	
	LFA3-Fc M1d1	LFA3-Fc WT
CD4 기억	51.39	51.49
CD4 나이브	19.36	28.74
B 세포	4.08	ND

[1455]

[1456] ND=결정되지 않음

[1457] NK 매개 세포독성을 평가하기 위한 대안적 검정은 표적 세포와 함께 증가하는 비로 배양된 정제된 NK 세포를 사용한다. 다수의 공여자에 걸쳐 보다 농축된 폴리펩티드를 사용하는 NK 적정 세포독성 검정은 단리된 기억 세포의 우선적인 사멸을 입증하였다. 정제된 표적 세포 집단 (CD4 기억, CD4 나이브 및 B 세포)을 NK 세포와 함께 다양한 이펙터 대 표적 비로 및 100 nM의 LFA3-Fc WT 또는 LFA3-Fc M1d1과 함께 배양하였다 (도 13b-13c). 10:1의 이펙터 대 표적 비 (E:T) 및 100 nM의 단백질 농도에서, LFA3-Fc WT 및 LFA3-Fc M1d1은 CD4 기억 세포 및 나이브 세포에서 세포독성을 유도하였다 (표 19).

[1458] 표 19. NK 세포독성

세포 유형	LFA3-Fc M1d1 최대 세포독성 (%)		LFA3-Fc WT 최대 세포독성 (%)	
	평균	SEM	평균	SEM
CD4 기억 세포	22.31	4.23	9.07	2.31
CD4 나이브 세포	3.98	2.86	0.14	1.99

[1459]

[1460] 각각의 세포 유형에 대해 n=3

[1461] 이 연구는 인간 PBMC를 사용하는 시험관내 검증에서 CD2+ T 세포의 ADCC의 LFA3-Fc 단백질 유도를 예시하였다. LFA3-Fc M1d1은 LFA3-Fc WT보다 기억 CD4 세포의 ADCC를 유도하는데 3-4배 더 강력하였다. LFA3-Fc M1d1은 나이브 CD4 T 세포와 비교하여 더 높은 수준의 CD2 단백질을 발현하는 것으로 공지된 기억 CD4+ T 세포를 우선적으로 표적화한다. 따라서, 이들 연구는 치료 폴리펩티드 LFA3-Fc M1d1이 표적 CD2+ T 세포의 ADCC를 유도한다는 것을 입증한다.

[1462] 표 20. LFA3-Fc 변이체의 신규하고 유용한 특징

특징	LFA3-Fc WT	LFA-Fc M1d1*
<b>아미노산 서열</b>		
LFA3 도메인	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:26
SEQ ID NO: 3 대비 변화		A36V, L38F, F43V, M86F, 92insL
Fc 도메인	SEQ ID NO: 128	SEQ ID NO: 16
SEQ ID NO: 128 대비 변화		D136E, L138M, 226delK
LFA3-Fc	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO:69
SEQ ID NO: 4 대비 변화		A36V, L38F, F43V, M86F, V92_D93insL, D228E, L230M, 319delK
<b>뉴클레오티드 서열</b>		
LFA3 도메인	SEQ ID NO: 126	SEQ ID NO: 53
Fc 도메인	SEQ ID NO: 127	SEQ ID NO: 43
LFA3-Fc	SEQ ID NO: 125	SEQ ID NO: 123
<b>ADCC</b>		
CD4 T <sub>mem</sub> EC <sub>50</sub>	1.559 +/- 0.425 nM	0.348 +/- 0.098 nM
CD4 T <sub>non-mem</sub> EC <sub>50</sub>	4.466 +/- 2.447 nM	1.256 +/- 0.446 nM
CD8 T <sub>mem</sub> EC <sub>50</sub>	57.2 +/- 55.2 nM	0.716 +/- 0.116 nM
CD8 T <sub>non-mem</sub> EC <sub>50</sub>	49.7 +/- 47.3 nM	0.787 +/- 0.279 nM
<b>LFA3-Fc의 열 안정성</b>		
트리스 pH 7.5	59.7°	66.3°
히스티딘 pH 5.8	60.9°	64.01°
글루타메이트 pH 4.5	56.4°	61.4°
<b>열 안정성</b>		
DSC	Tm1, 47°C	Tm1, 65°C
DSF	Tm1, 40°C	Tm1 60°C
LFA3 도메인의 열 안정성	52.2°	64.8°
시간-경과 안정성	낮은 pH에서의 유의한 불안정성; 25°C 및 40°C에서의 보다 높은 응집률	단편화에 대한 우수한 안정성
순도	97%	99%
글루타메이트, 트레할로스 및 EDTA 완충제, pH4.5 중 용해도	165 mg/mL	148 mg/mL
클리칸 조성	22 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드	9-14 nmol 시알산/nmol 폴리펩티드
수율	4.95 mg/20 mL 배양물	7 mg/20 mL 배양물
단백질 A를 제외한 단량체 중 (%)	73.9% 단량체; 18% HMWS; 7.1% LMWS	>99% 단량체

[1463]

분석 SEC	99.2% 단량체	99.6% 단량체
열 안정성		
DSC	Tm1, 47°C	Tm1, 65°C
DSF	Tm1, 40°C	Tm1 60°C
강제 응집 경향	40°C HMWS ~23%로 증가 50°C HMWS ~29%로 증가	40°C HMWS의 증가 없음 50°C HMWS 3%로 증가
낮은 pH 유지 (5시간)	11% HMWS, LMWS의 증가 없음	4% HMWS, LMWS의 증가 없음
동결-해동 (5회 사이클)	HMWS의 ~2% 증가	HWS의 증가 없음
SPR에 의한 인간 재조합 CD2에 대한 친화도 (K <sub>D</sub> )	1.41-1.47 μM	0.73 - 1.08 μM
SPR에 의한 시노 재조합 CD2에 대한 친화도 (K <sub>D</sub> )	1.5 μM	1.06 μM
세포 결합 (CD4 T <sub>mem</sub> ) K <sub>d</sub>	501 pM	94 pM
MLR (IC <sub>50</sub> )	2.48 nM	0.302 nM
TTR (IC <sub>50</sub> )	28.4 nM	1.34 nM

[1464]

[1465]

\*본원에 개시된 모든 LFA3-Fc 변이체를 포괄하는 예시적인 실시양태.

[1466]

개시된 교시가 다양한 적용, 방법, 키트 및 조성물을 참조로 하여 기재되긴 하였지만, 본원의 교시 및 하기 청구된 발명으로부터 벗어나지 않으면서 다양한 변화 및 변형이 이루어질 수 있는 것으로 인지될 것이다. 상기 실시예는 개시된 교시를 보다 잘 예시하기 위해 제공되고, 본원에 제시된 교시의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 본 교시가 이들 예시적인 실시양태의 면에서 기재되었지만, 이들 예시적인 실시양태의 수많은 변경 및 변형이 과도한 실험 없이 가능하다는 것을 통상의 기술자는 용이하게 이해할 것이다. 모든 이러한 변경 및 변형은 본 교시의 범주 내에 있다.

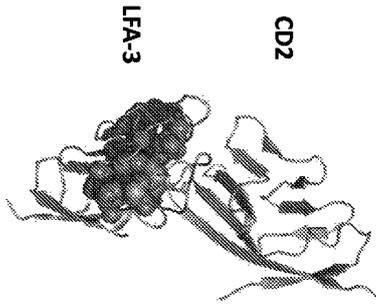
[1467]

특허, 특허 출원, 논문, 교재 등을 포함한 본원에 인용된 모든 참고문헌 및 그에 인용된 참고문헌은 이들이 이미 포함되어 있지는 않은 정도로, 모든 목적을 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다. 정의된 용어, 용어 용법, 기재된 기술 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 포함된 문헌 및 유사한 자료 중 하나 이상이 본 출원과 상이하거나 모순되는 경우에, 본 출원이 우선한다.

[1468]

실제로, 본 발명의 범주 또는 취지로부터 벗어나지 않으면서 본 발명에서 다양한 변형 및 변경이 이루어질 수 있다는 것은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 본 발명의 다른 실시양태는 명세서의 고려사항 및 본원에 개시된 본 발명의 실시로부터 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 명백할 것이다. 명세서 및 실시예는 단지 예시적인 것으로 고려되도록 의도되고, 본 발명의 진정한 범주 및 취지는 하기 청구범위에 의해 나타내어진다.

**S** 라이보러리 (안정성)



**AS** 라이보러리 (친화도 + 안정성)



결속 라이보러리 중이온적 다양성 = 2.4x10<sup>6</sup>

잔기	위치	동원변이유형	코돈	다양성
Glu	25	D, E, N, K, Q, H	VAK	3x1x2
Leu	27	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Lys	29	K, R, M, T	ANG	1x1x1
Lys	32	K, R, M, T	ANG	1x1x1
Asp	33	D, E, N, K, Q, H	VAM	3x1x2
Lys	34	K, R, M, T	ANG	1x1x1
Glu	37	D, E, N, K, Q, H	VAK	3x1x2
Glu	39	D, E, N, K, Q, H	VAM	3x1x2
Glu	42	D, E, N, K, Q, H	VAK	3x1x2
Arg	44	K, R, M, T	ANG	1x1x1
Phe	46	F, Y, L, H, L, N, V, D	NWT	4x2x1
Ser	47	S, T, A, G	RST	2x2x1
Pro	80	P, L, H, R	CNT	1x1x1
Ile	82	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Asp	84	D, E, N, K, Q, H	VAM	3x1x2

결속 라이보러리 중이온적 다양성 = 4.3 x 10<sup>6</sup>

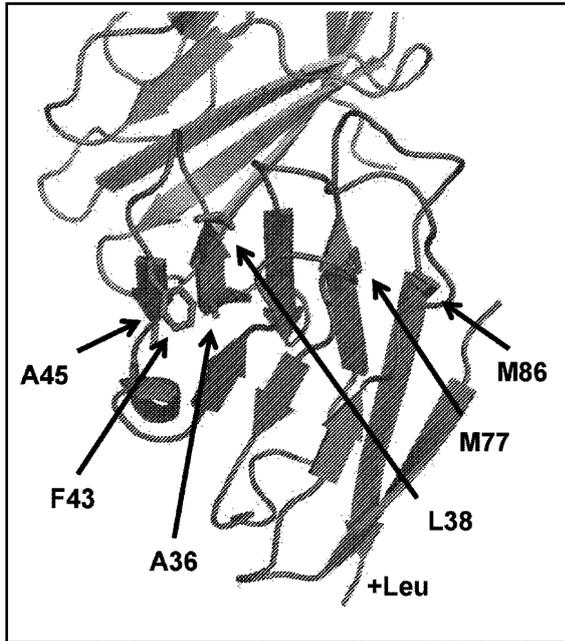
잔기	위치	동원변이유형	코돈	다양성
Phe	15	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Val	17	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Leu	23	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Val	26	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Trp	28	W, F, L, C	TTS	1x2x2
Val	35	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Ala	36	A, V, S, L	KVA	2x2x1
Leu	38	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Phe	43	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Ala	45	A, V, S, L	KVA	2x2x1
Leu	55	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Gly	60	S, T, A, G	RST	2x2x1
Leu	62	F, I, L, V	NTT	4x1x1
Met	77	M, L, L, F	WTS	2x1x2
Met	86	M, L, L, F	WTS	2x1x2
Phe	88	F, I, L, V	NTT	4x1x1

도면

도면1

도면2a

핫스팟 잔기



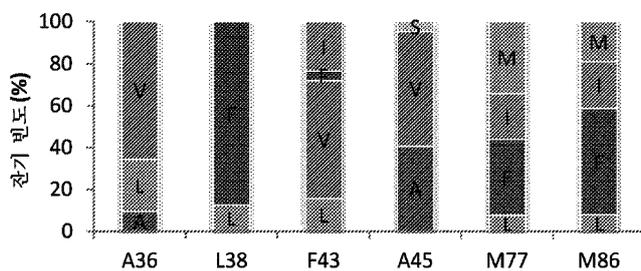
도면2b

라이브리에서 표적화된 LFA3 잔기

FSQQIYGVVYGNVT**F**HVPSNVPLKEVL**W**KKQKDKV  
**A**E**L**ENSE**F****R**A**F**SSFKNRVYLDTV**S**GLTIYNLTSS  
 DEDEY**E**M**E**SPNITDT**M****K**FFLYV (SEQ ID NO:  
 3)

도면2c

핫스팟 위치에서의 아미노산 변이의 빈도



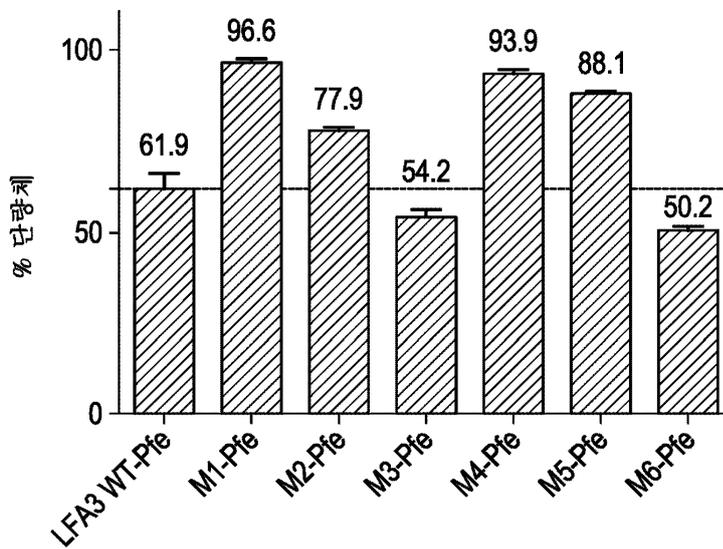
도면2d

제조합 변이체

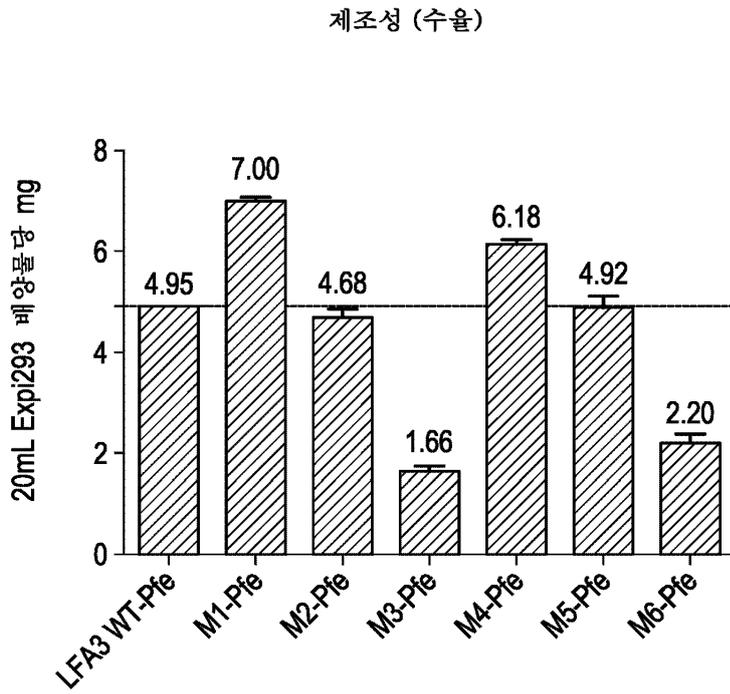
	36	38	43	45	77	86
<b>M1</b>	V	F	V	A	M	F
<b>M2</b>	V	F	V	A	F	F
<b>M3</b>	V	F	V	V	M	F
<b>M4</b>	V	F	V	V	F	F
<b>M5</b>	V	F	I	V	F	F
<b>M6</b>	L	F	L	V	F	F

도면3a

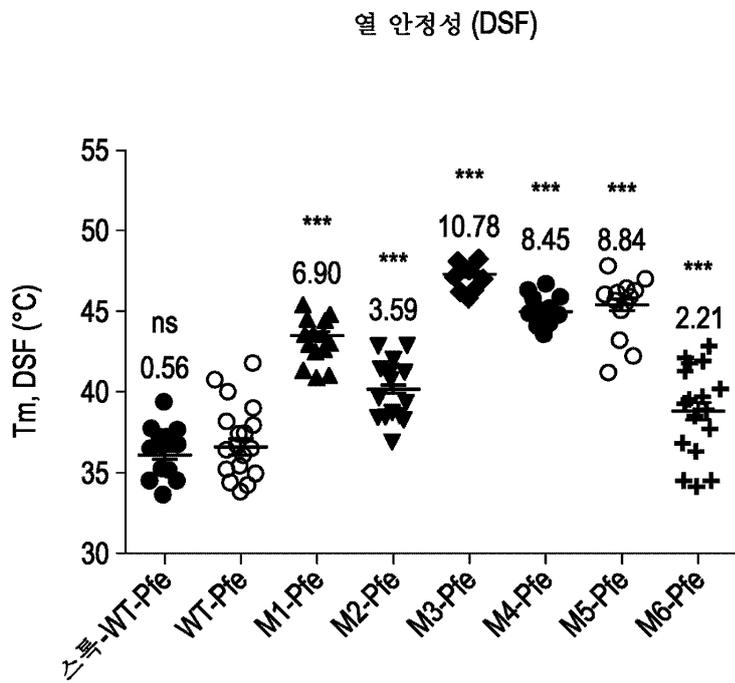
발현 프로파일 (% 단량체)



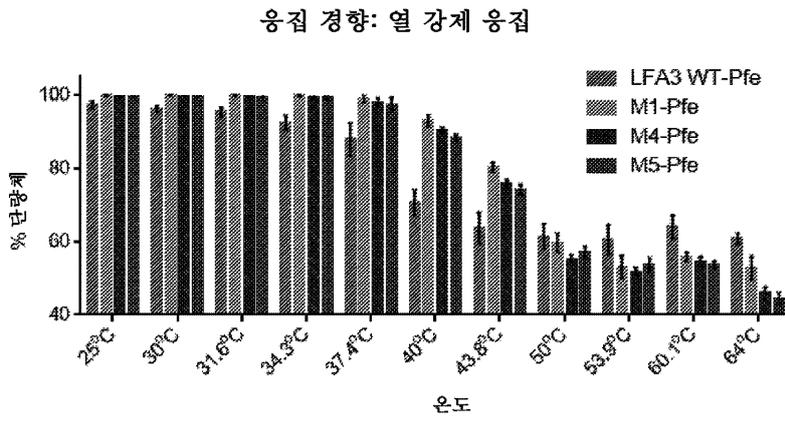
도면3b



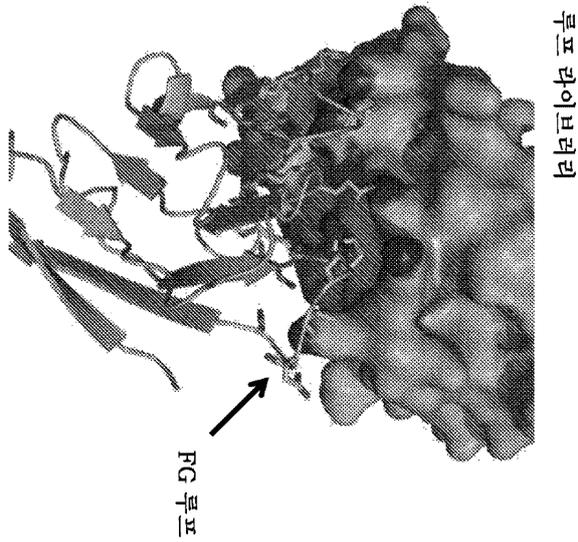
도면3c



도면3d



도면4



이론적 다양성 =  $3.4 \times 10^{10}$

잔기	위치	코돈
Set	79	NNK
Pro	80	NNK
Asn	81	NNK
Ile	82	NNK
Thr	83	NNK
Asp	84	NNK
Set	85	NNK

- 사용된 주형: WT, M1, M4 및 M5
- 라이브러리 크기 =  $2.9 \times 10^8$

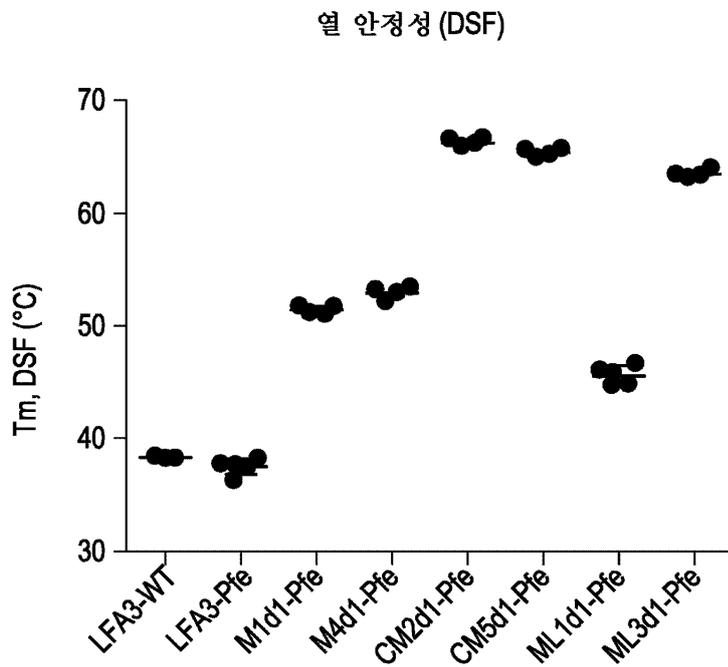
도면5a

SPR에 의한 CD2 결합 친화도

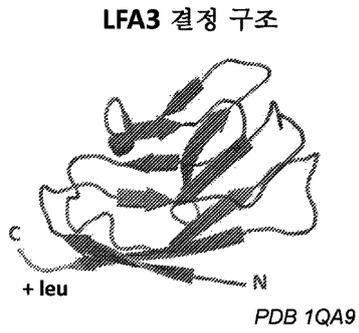
구축물	친화도 ( $\mu\text{M}$ )
WT LFA3-Fc	1.41
M1d1-Pfe	0.73
M4d1-Pfe	0.75
<b>ML1d1-Pfe</b>	<b>0.082</b>
<b>ML3d1-Pfe</b>	<b>0.052</b>
CM1d1-Pfe	0.13
<b>CM2d1-Pfe</b>	<b>0.10</b>
CM3d1-Pfe	0.088
<b>CM5d1-Pfe</b>	<b>0.063</b>
CM6d1-Pfe	0.061

*n*=1-3 exp

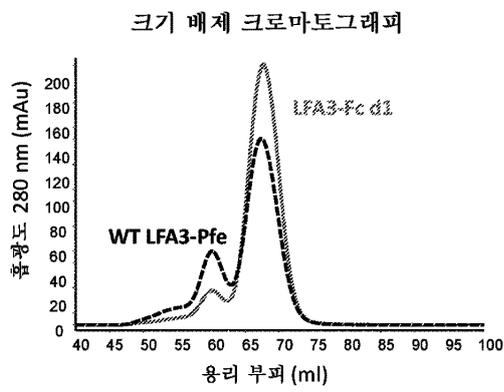
도면5b



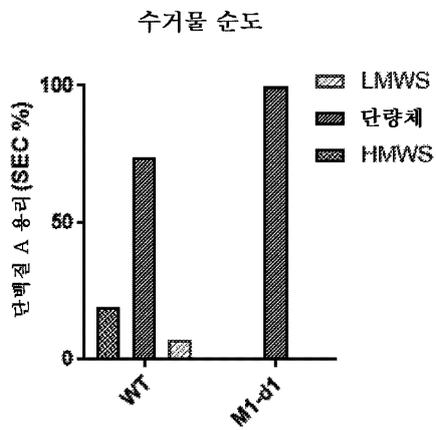
도면6a



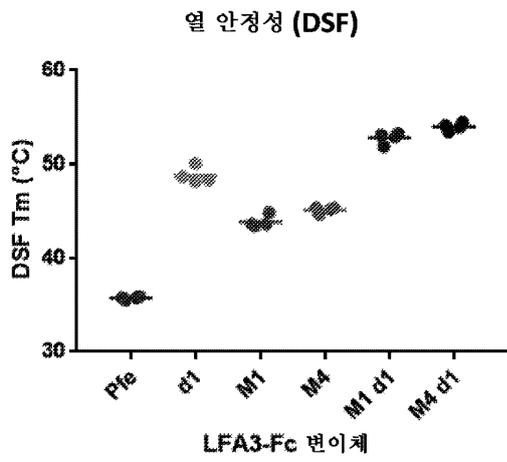
도면6b



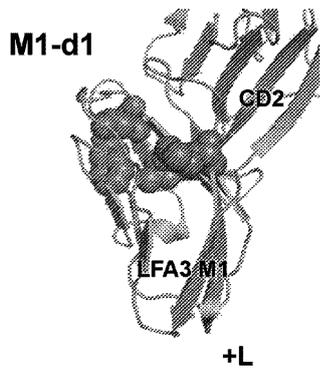
도면6c



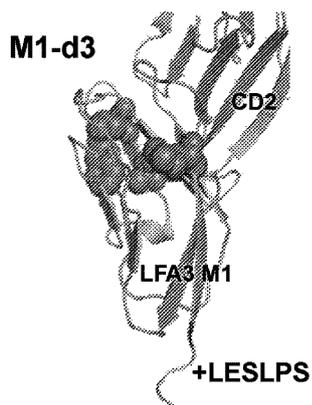
도면6d



도면7a



도면7b



도면7c

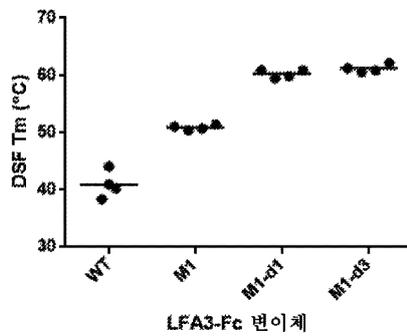
SPR에 의한 친화도

구축물	인간 ( $\mu\text{M}$ )	시노 ( $\mu\text{M}$ )
LFA3-WT	1.47	1.50
M1-d1	1.08	1.06
M1-d3	1.04	1.08

삼중 측정치의 평균

도면7d

열 안정성 (DSF)



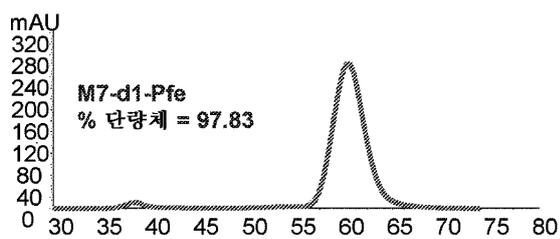
도면8a

서열

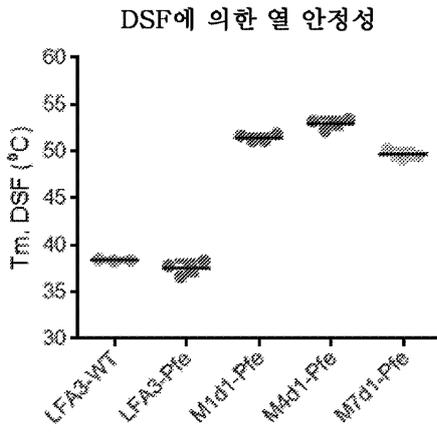
	36	38	43	45	77	86
WT	A	L	F	A	M	M
M1	V	F	V			F
M4	V	F	V	V	F	F
M7	V	F	V			

도면8b

SEC 크로마토그램



도면8c



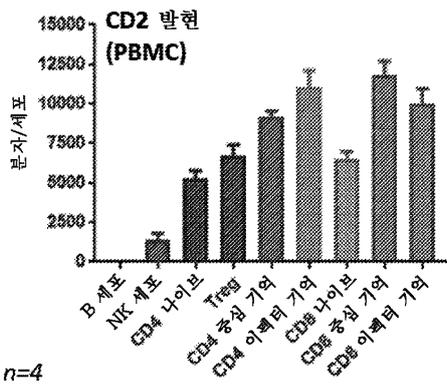
도면8d

SPR에 의한 친화도

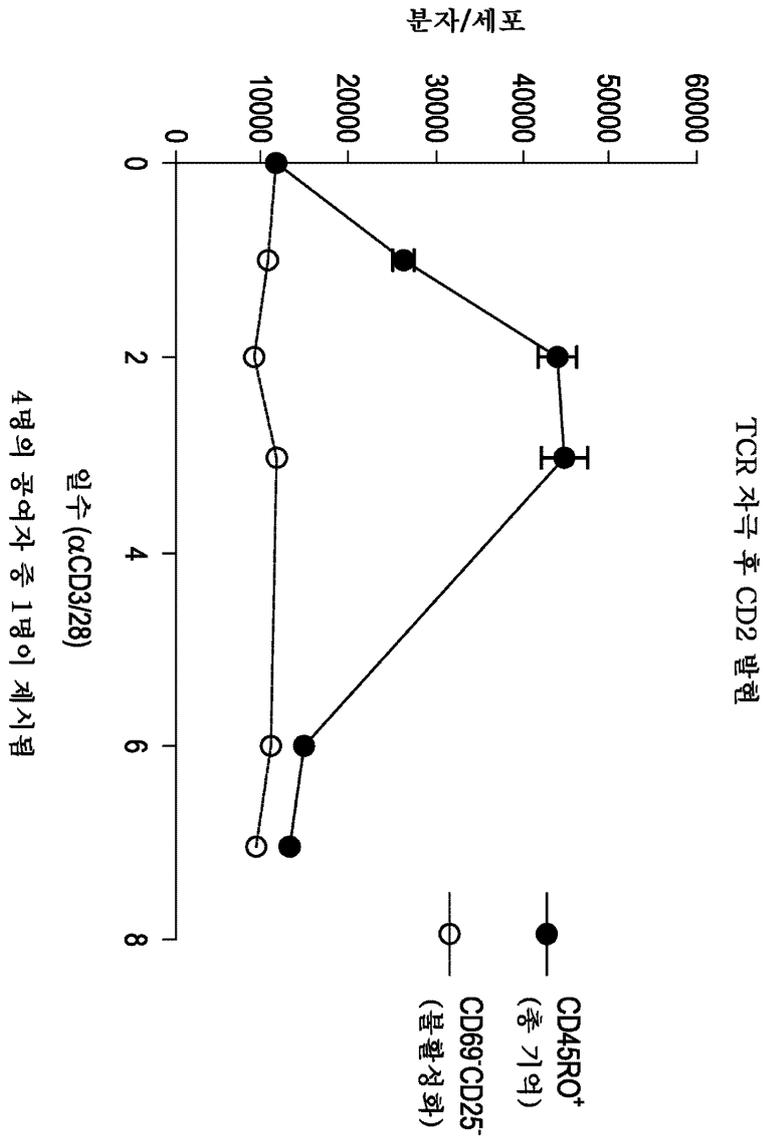
구축물	친화도 (μM)
WT	1.41
M1-d1 Pfe	0.73
M4-d1 Pfe	0.75
<b>M7-d1-Pfe</b>	<b>0.92</b>

n=4-7

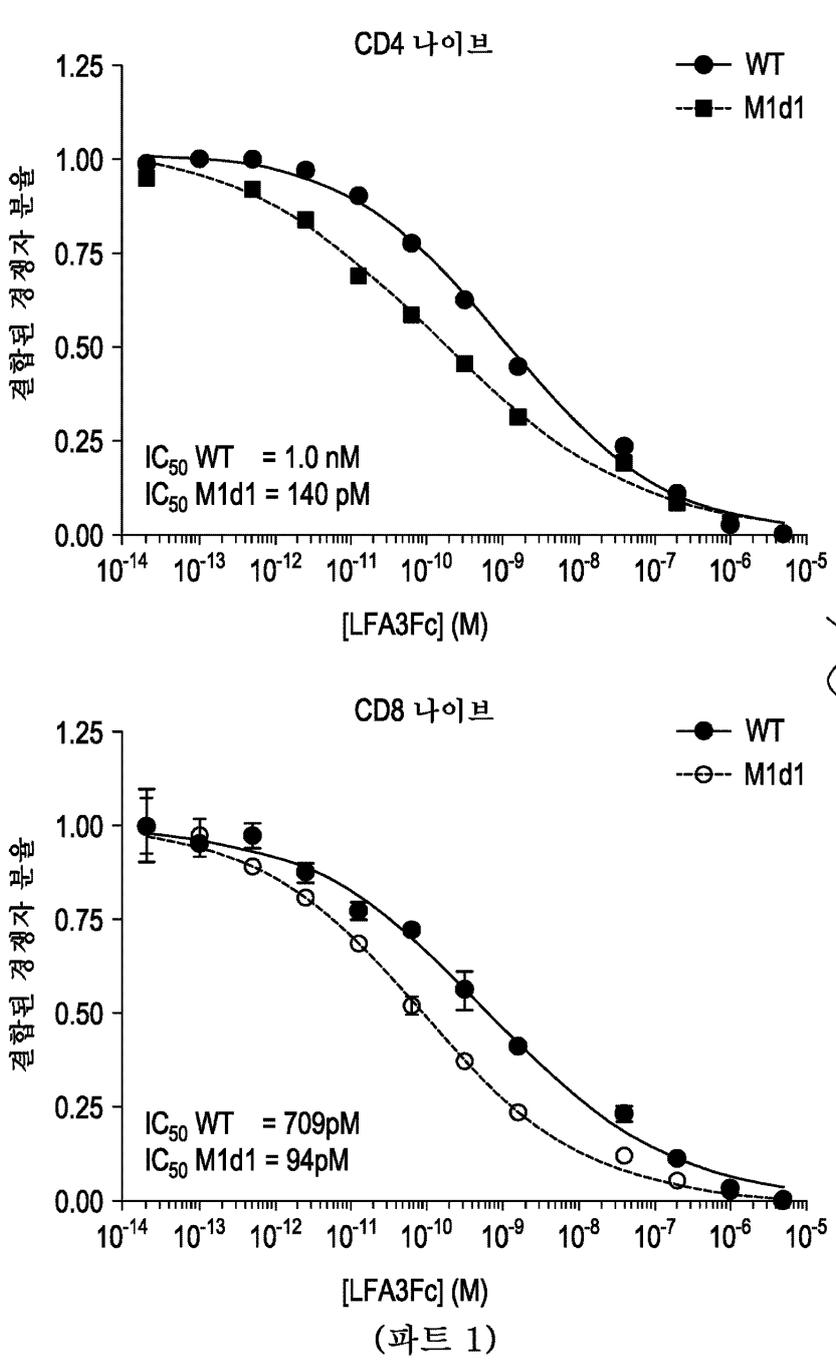
도면9



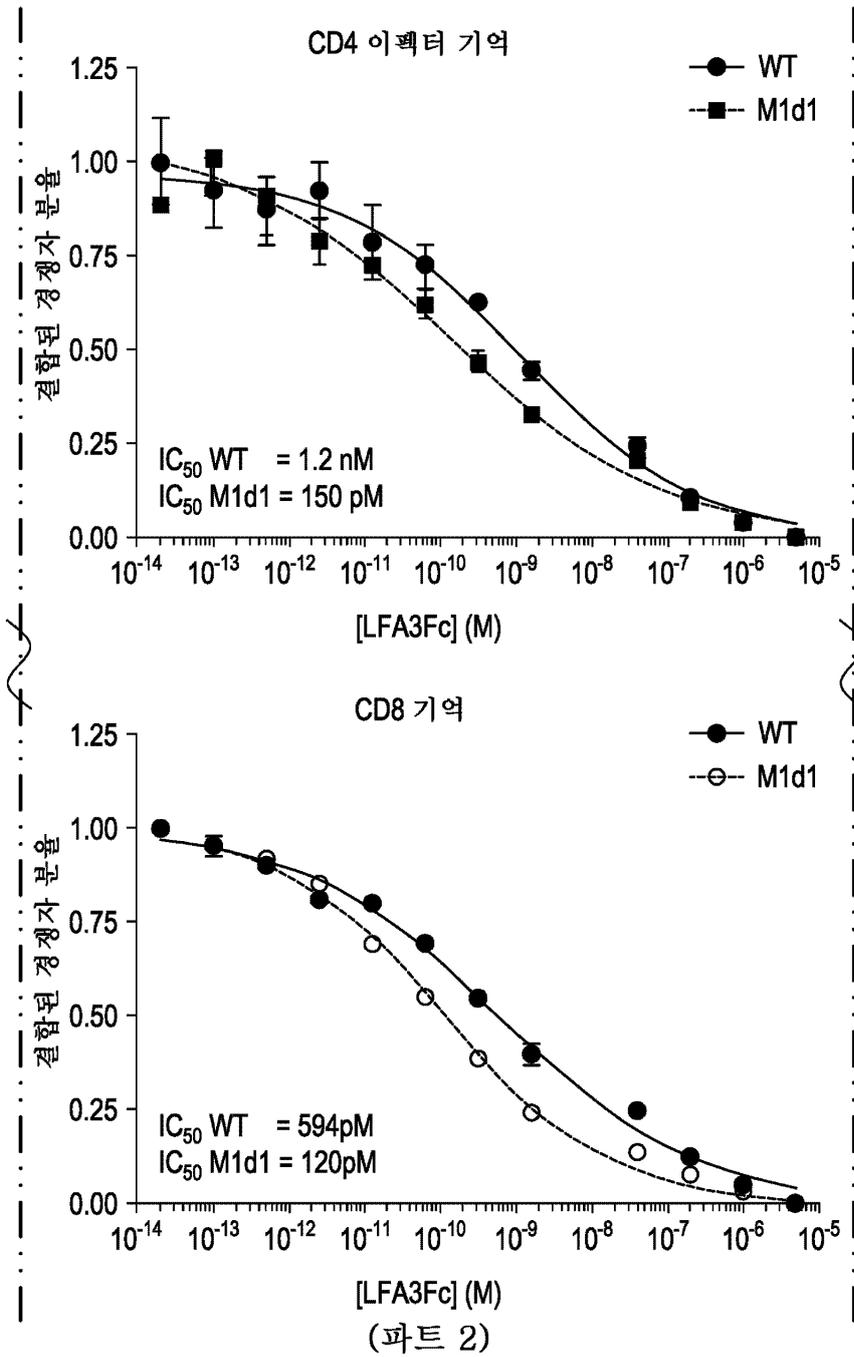
도면10



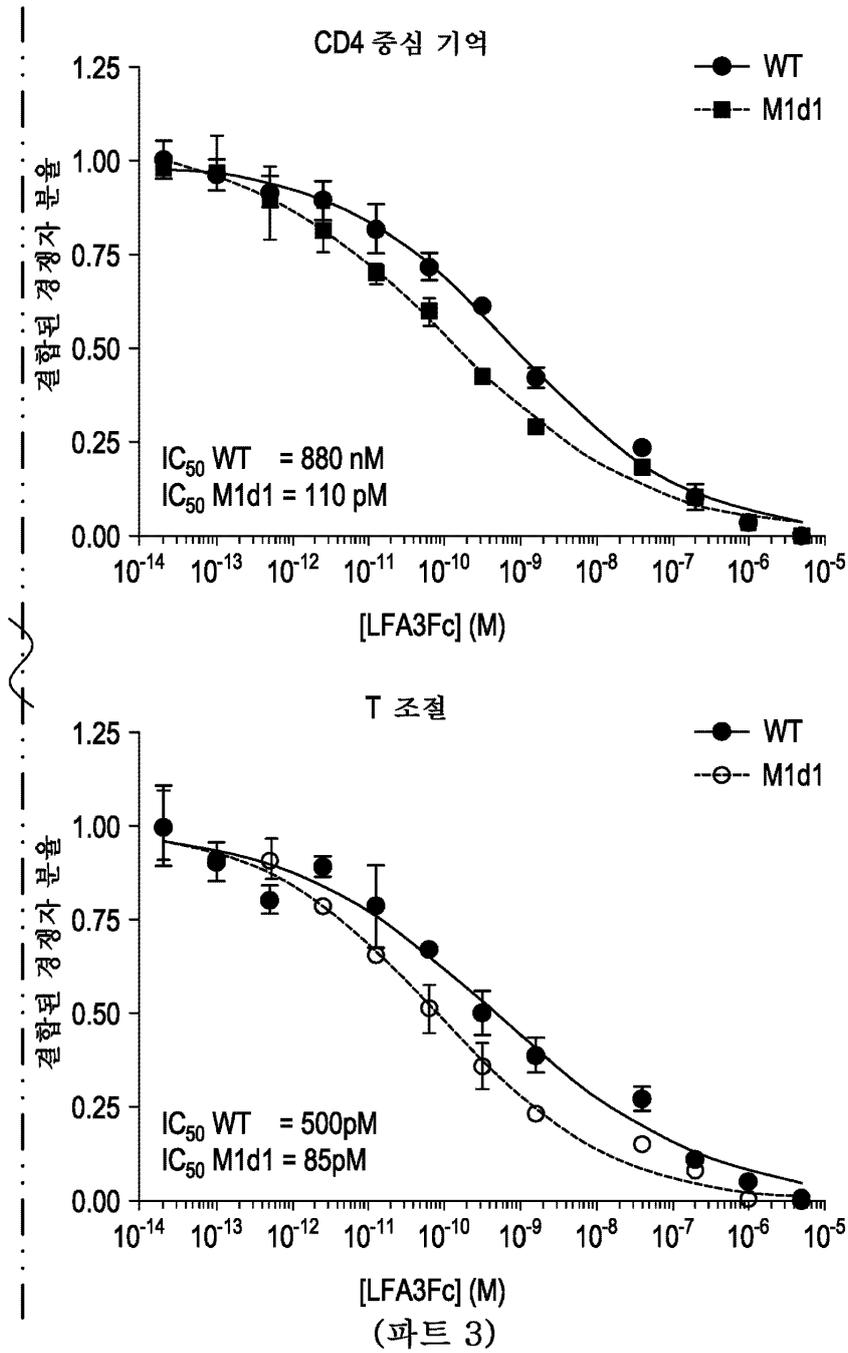
도면11i



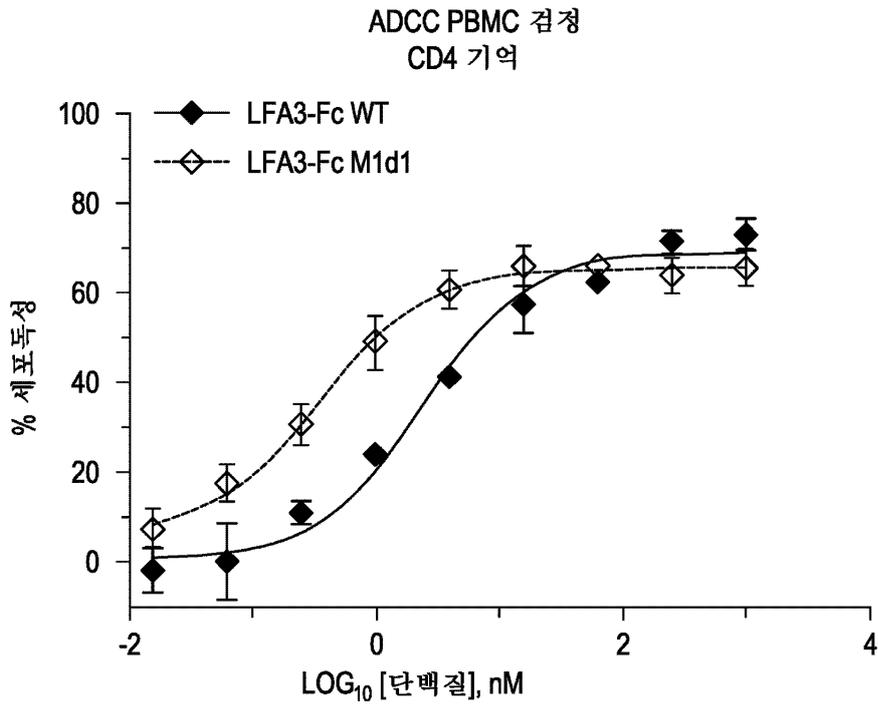
도면11ii



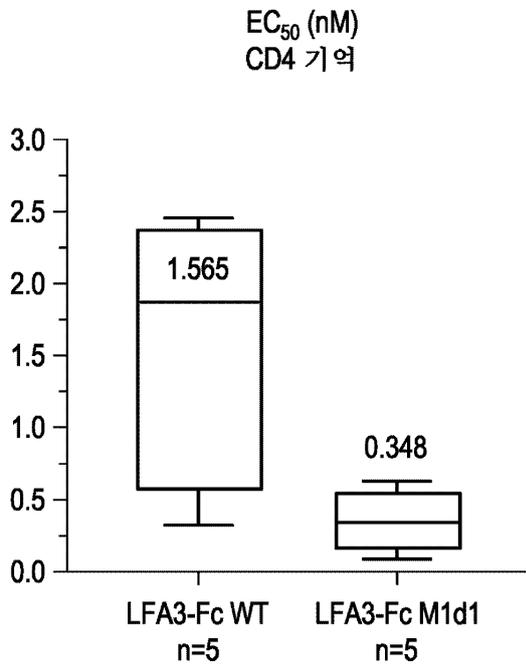
도면11iii



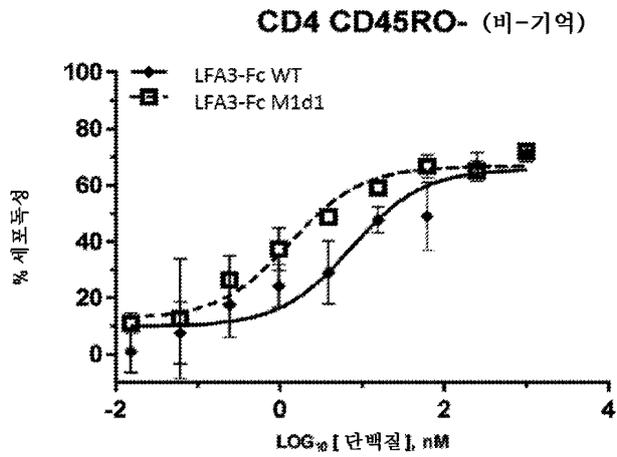
도면12a



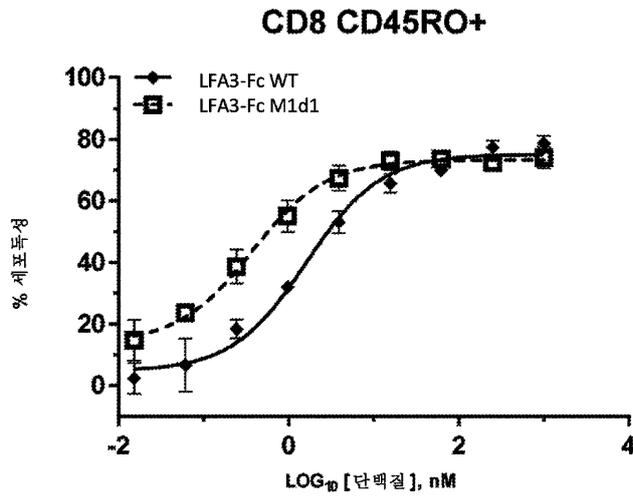
도면12b



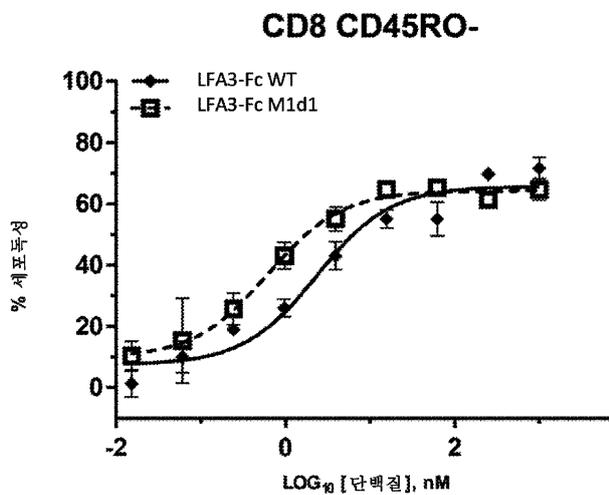
도면12c



도면12d

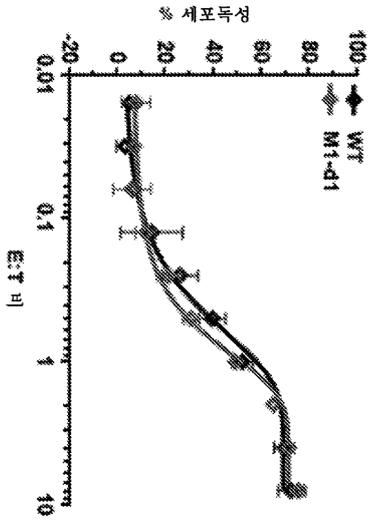


도면12e

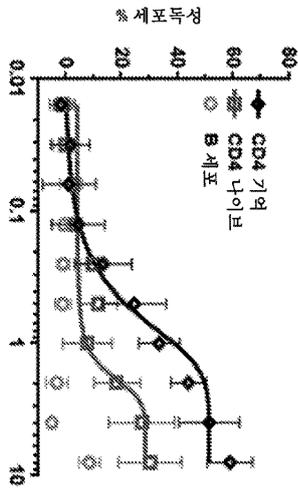


도면13

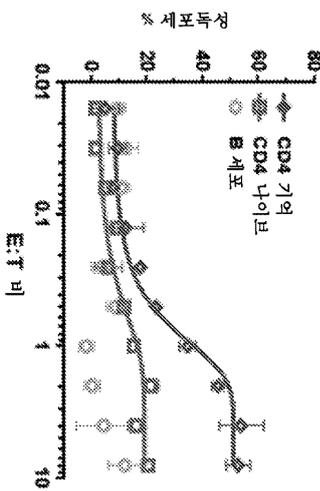
도 13a 세포독성 검정 : NK 적정 CD4 기역



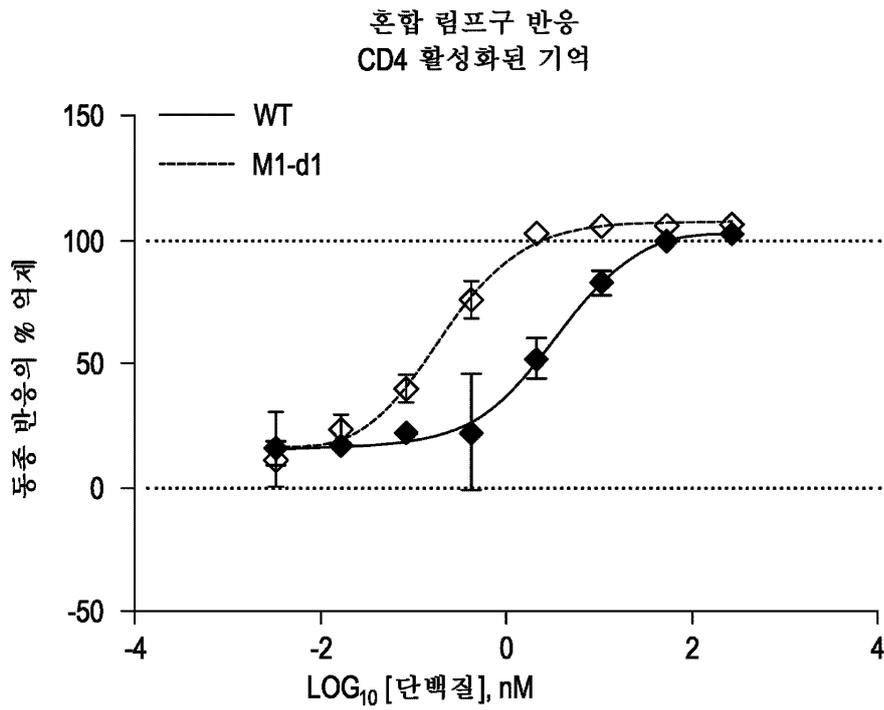
도 13b 세포독성 검정 : NK 적정 WT 100nM



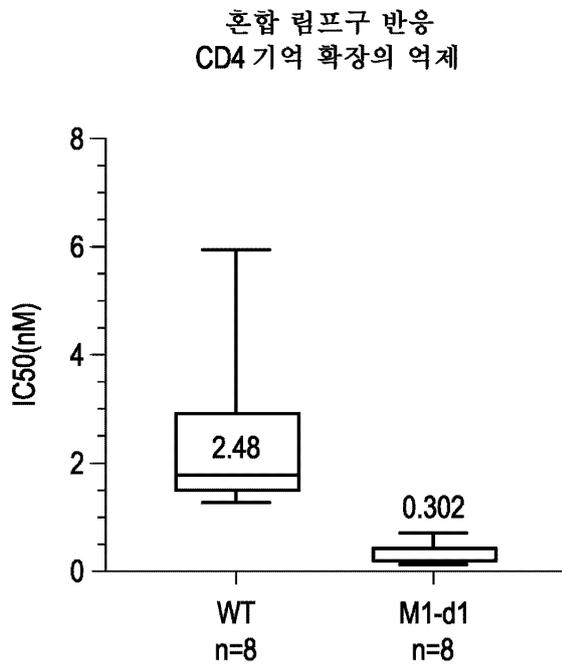
도 13c



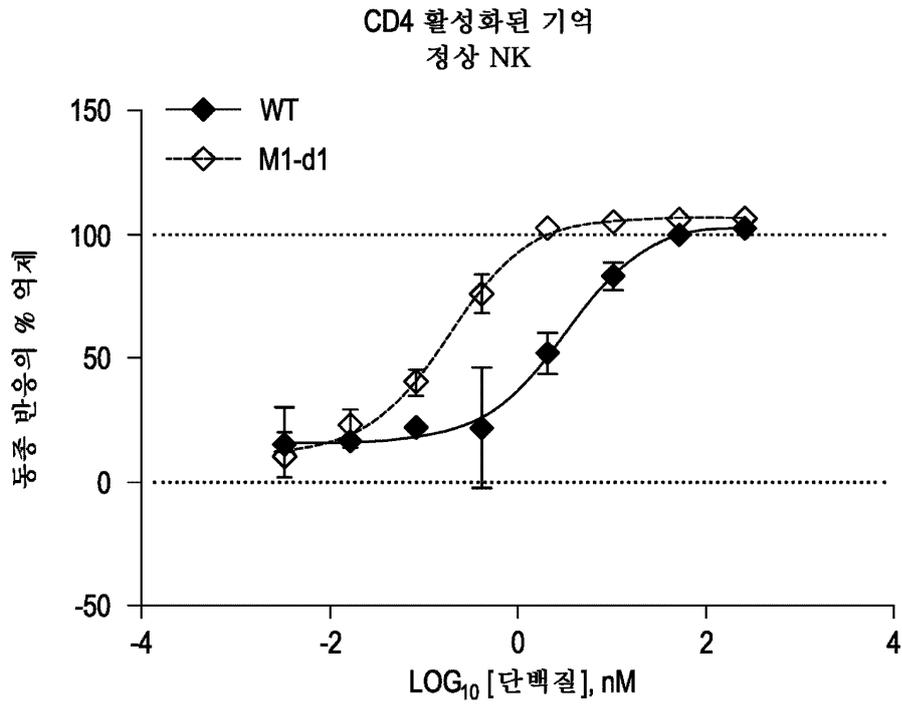
도면14a



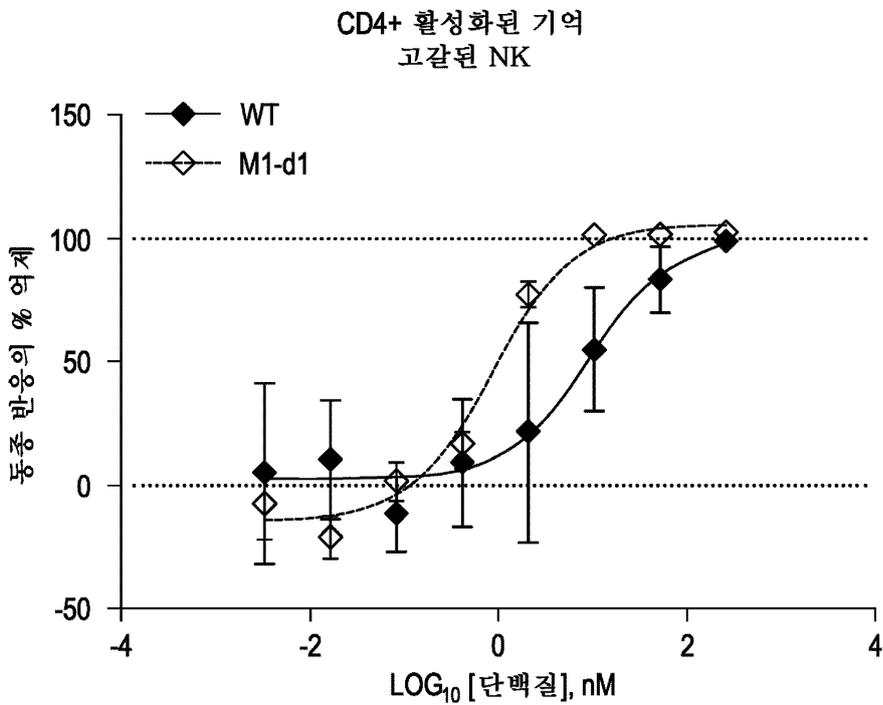
도면14b



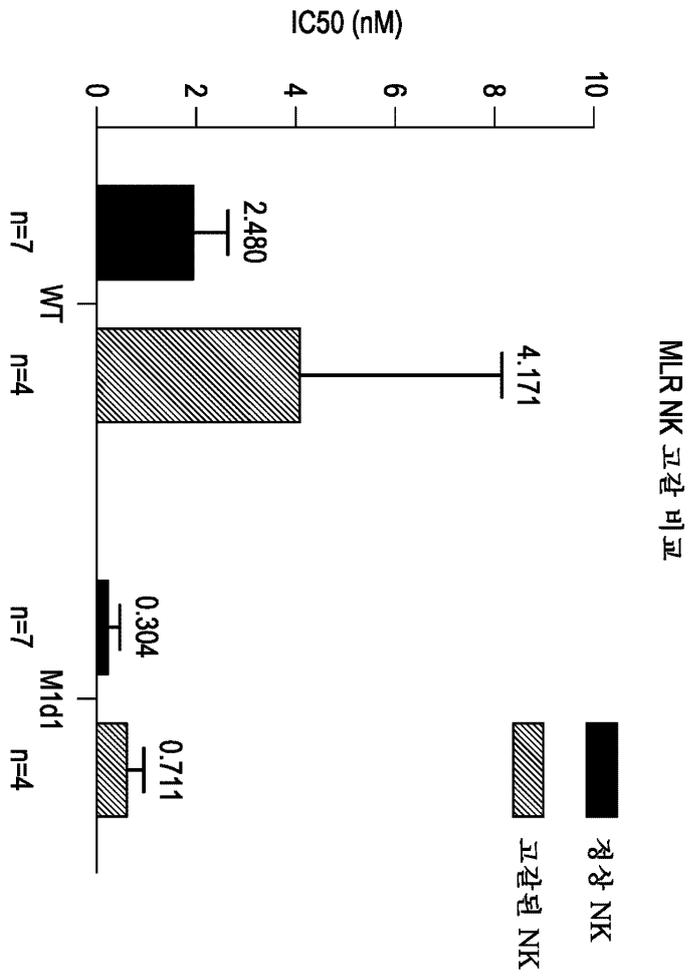
도면15a



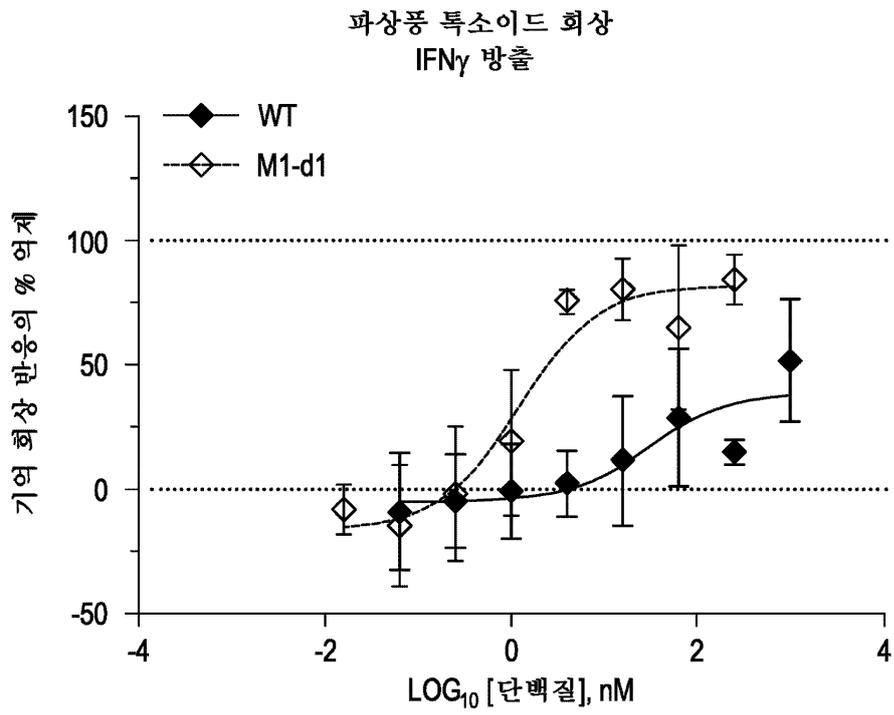
도면15b



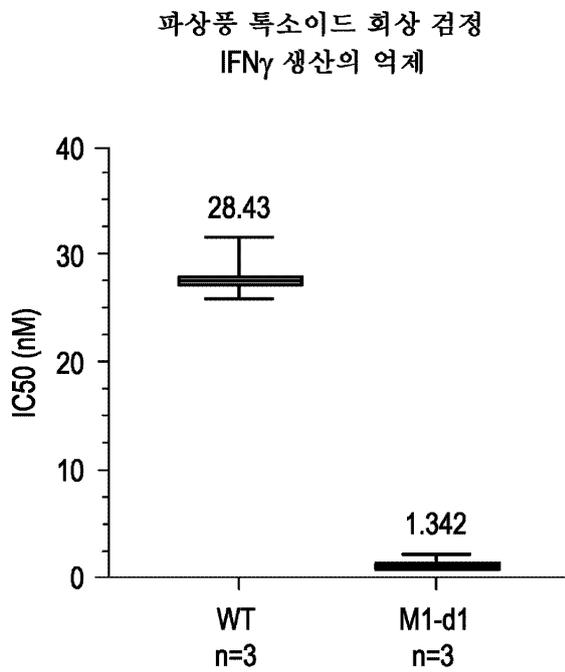
도면15c



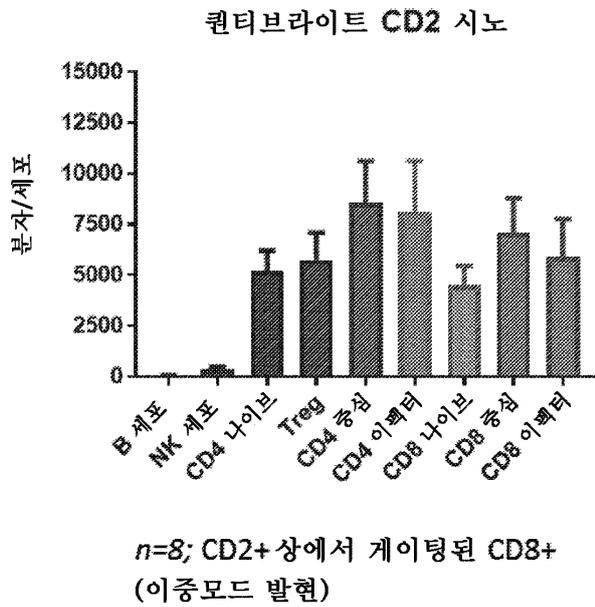
도면16a



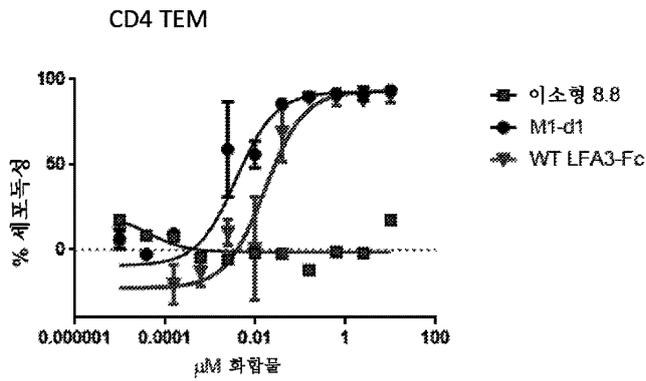
도면16b



도면17



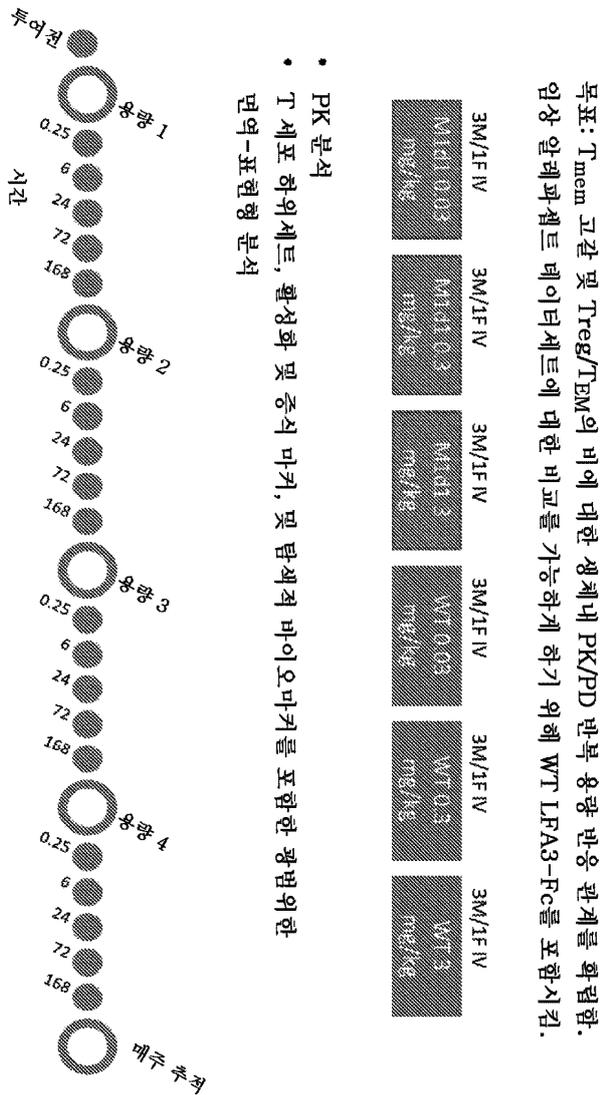
도면18a



도면18b

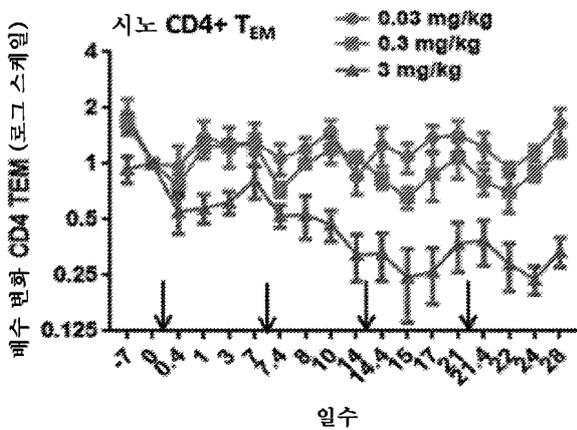
CD4+ TEM	M1d1 EC50 nM	WT EC50 nM
시노 1	22.05	33.88
M12817	3.78	16.32
YR669M	1.96	7.71

도면19

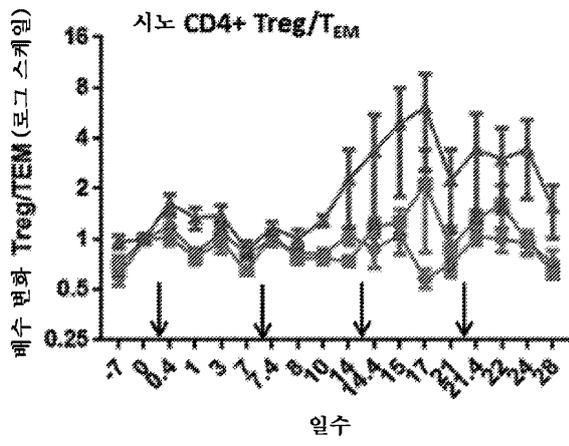


목표: T<sub>mem</sub> 고갈 및 T<sub>reg</sub>/T<sub>EM</sub>의 비에 대한 생체내 PK/PD 반복 용량 반응을 확인함.  
 임상 알레르겐 트 데이 터 세트에 대한 비교를 가능하게 하기 위해 WT LFA3-Fc를 포함시킴.

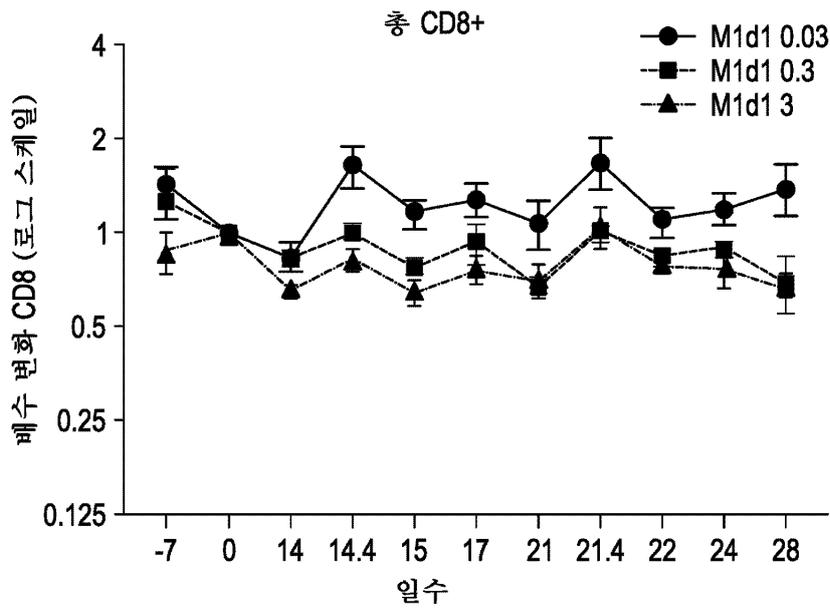
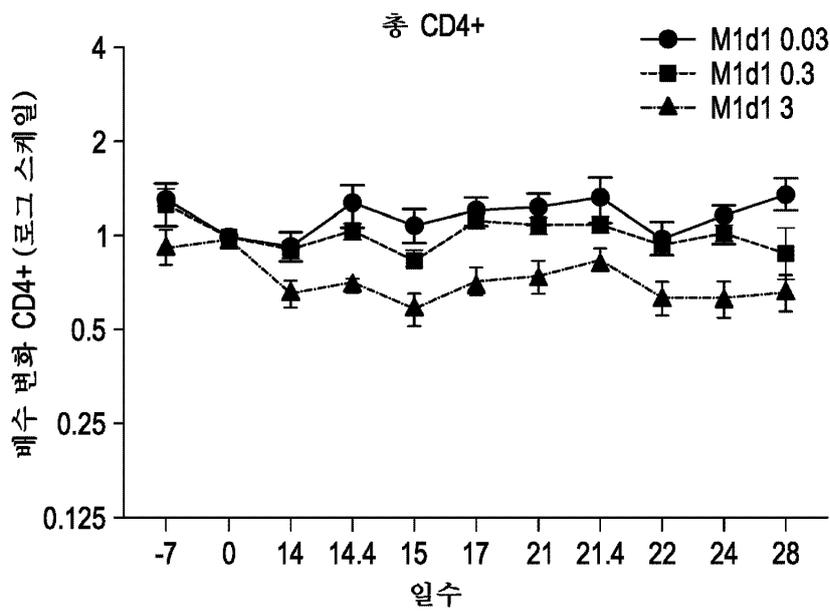
도면20a



도면20b

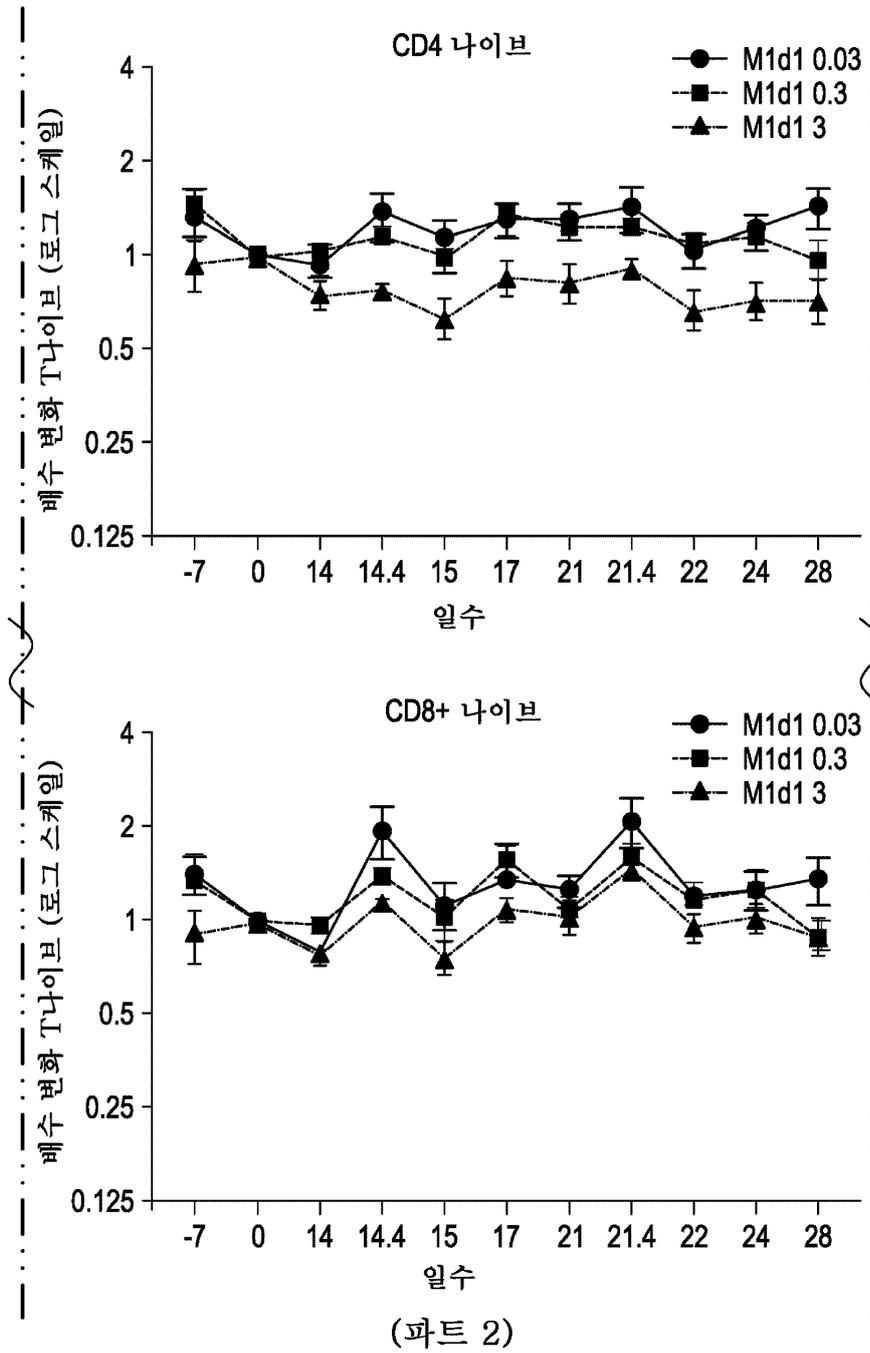


도면21i

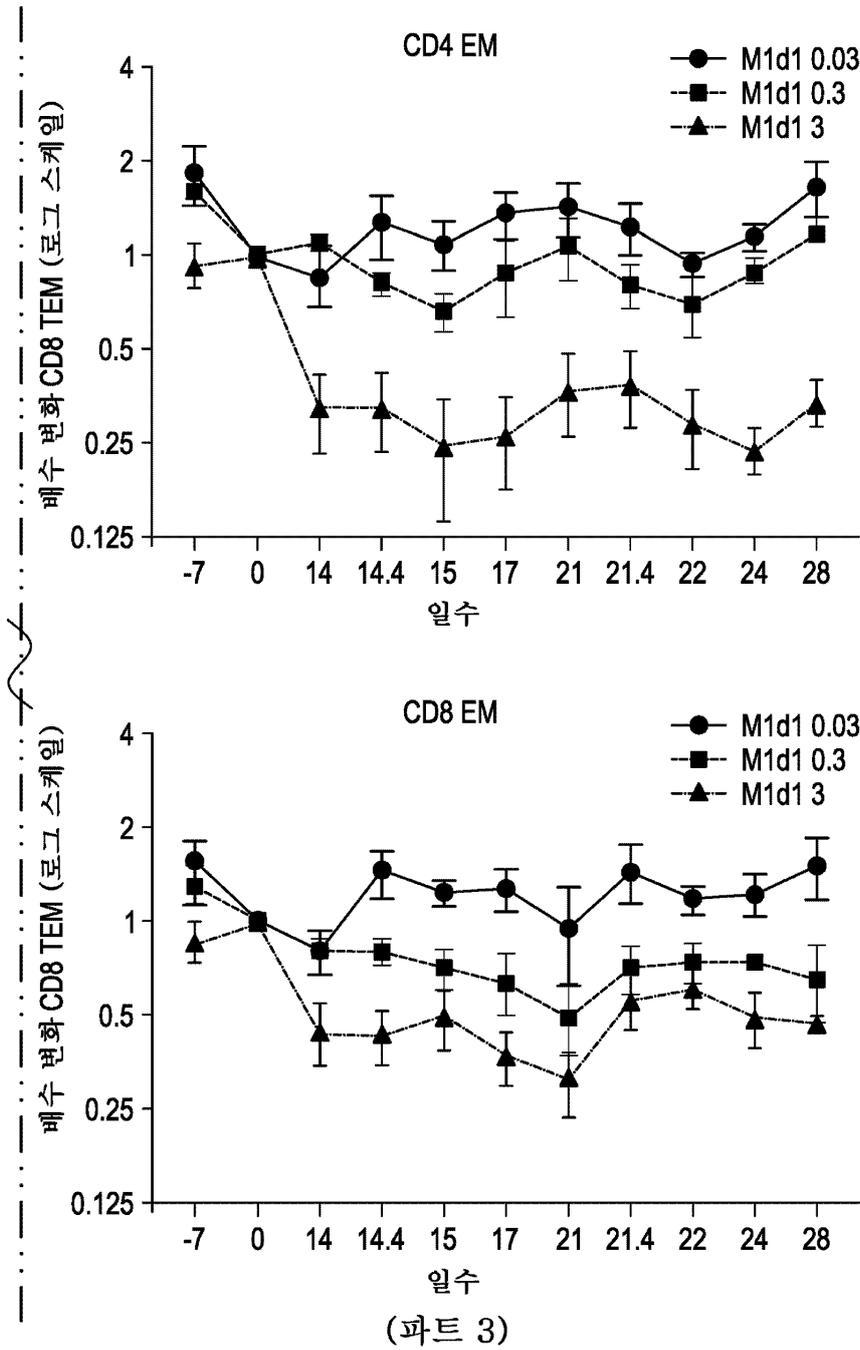


(파트 1)

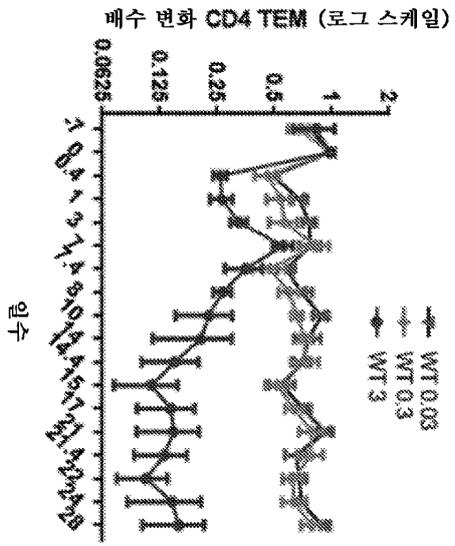
도면21ii



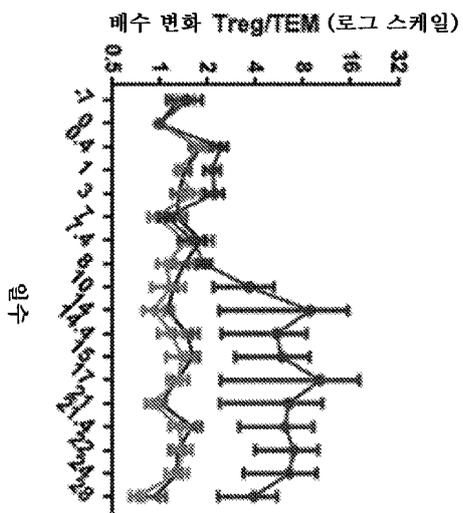
도면21iii



도면22

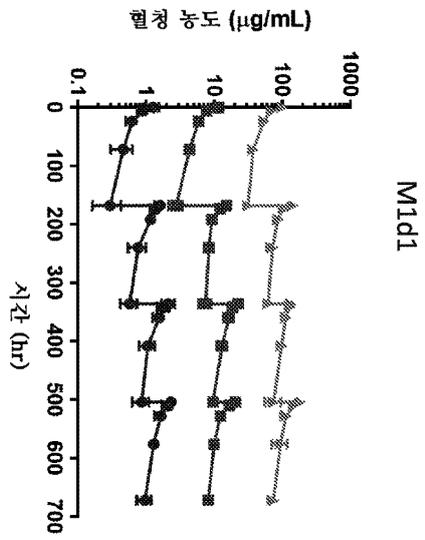


도 22a

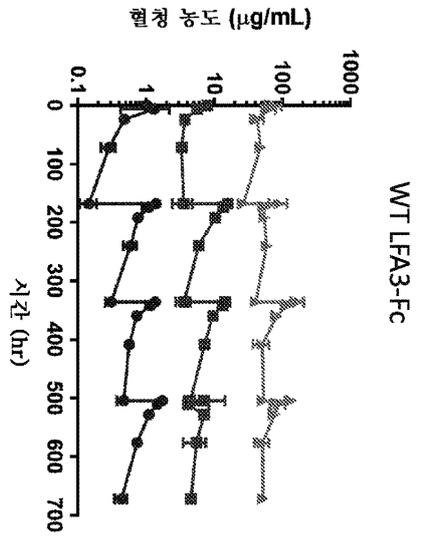


도 22b

도면23



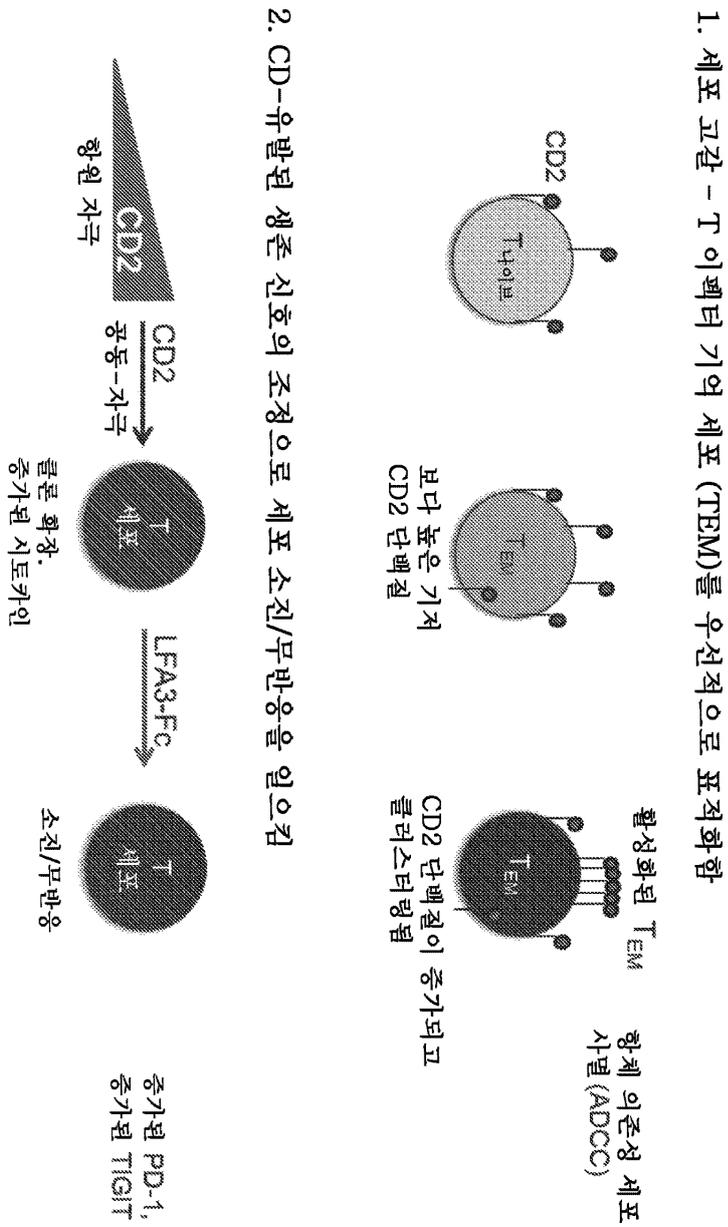
도 23a



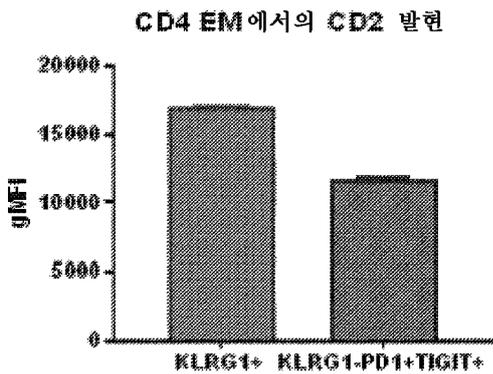
도 23b

● 0.03mpk  
 ■ 0.3mpk  
 ▨ 3mpk

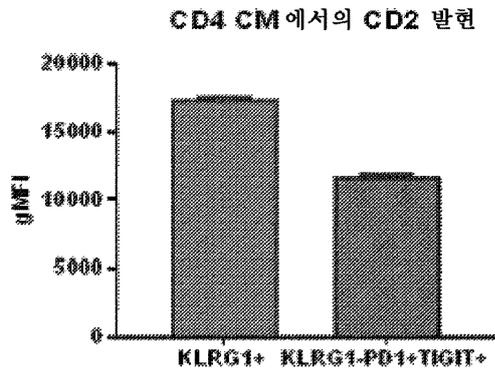
도면24



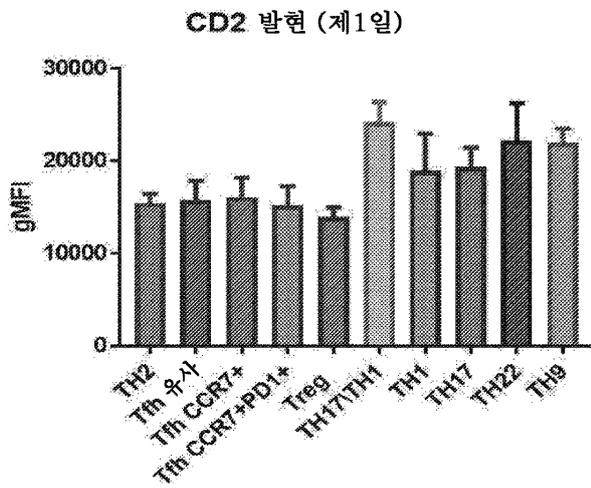
도면25a



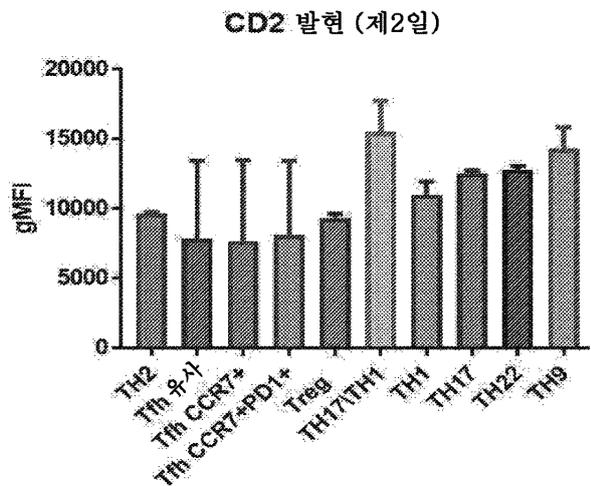
도면25b



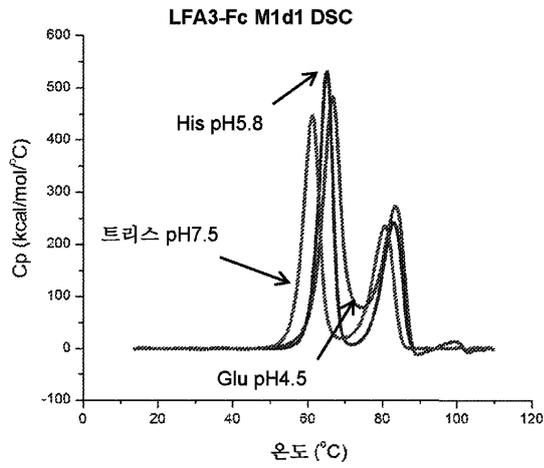
도면26a



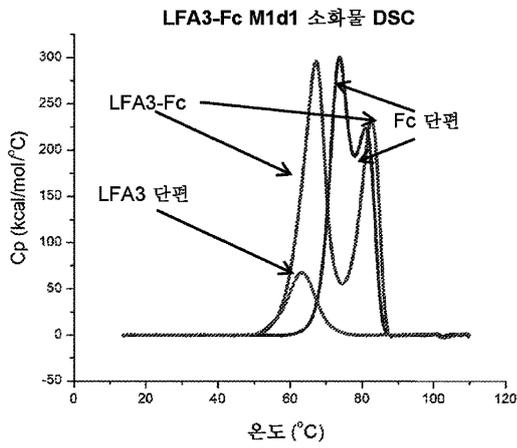
도면26b



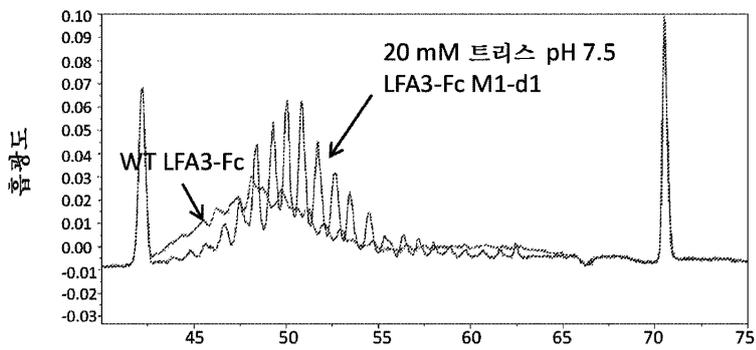
도면27



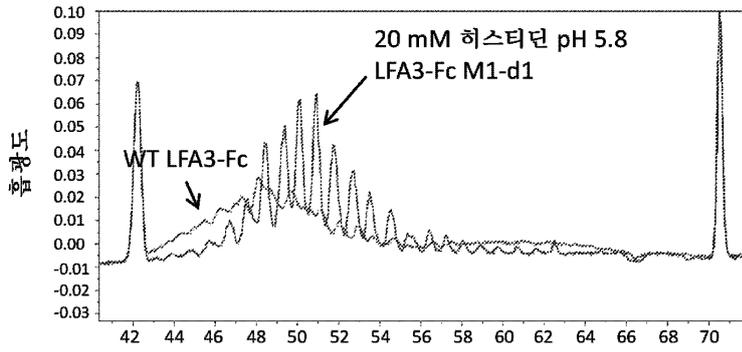
도면28



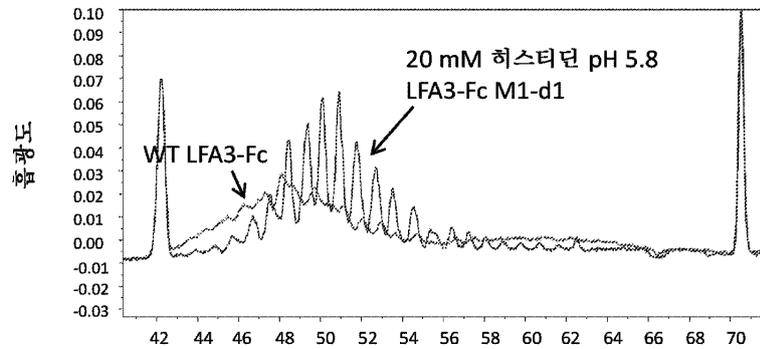
도면29a



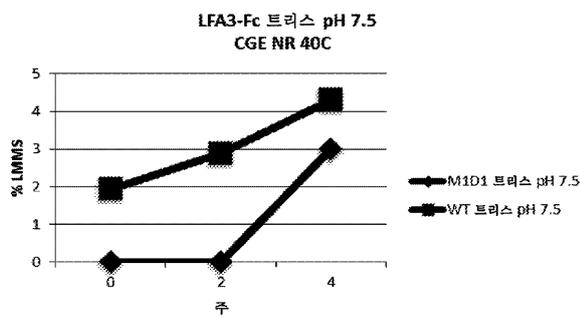
도면29b



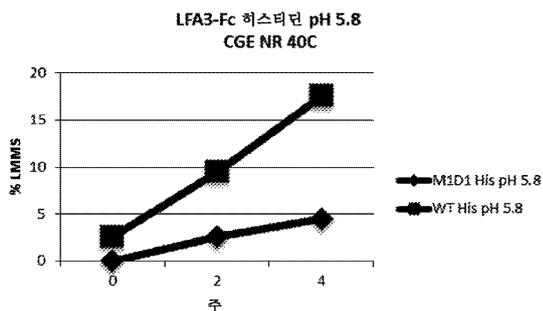
도면29c



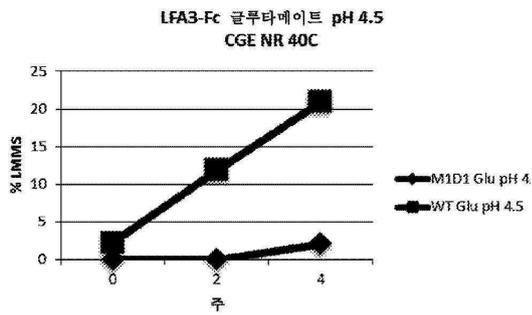
도면30a



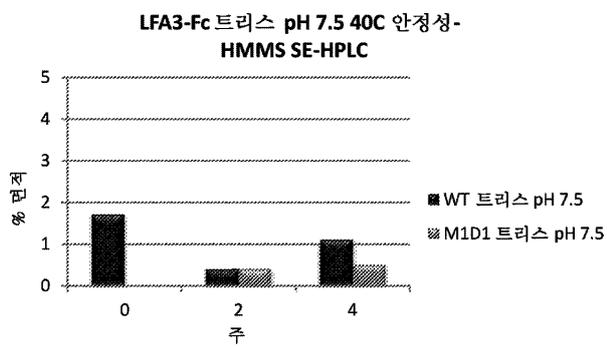
도면30b



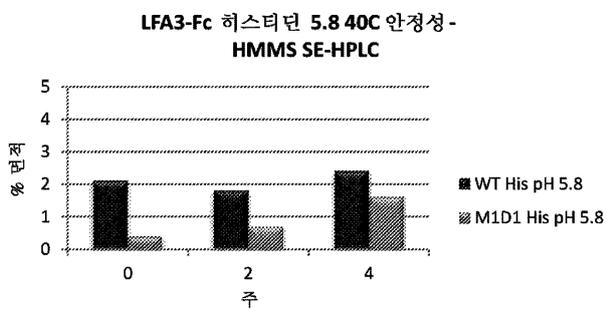
도면30c



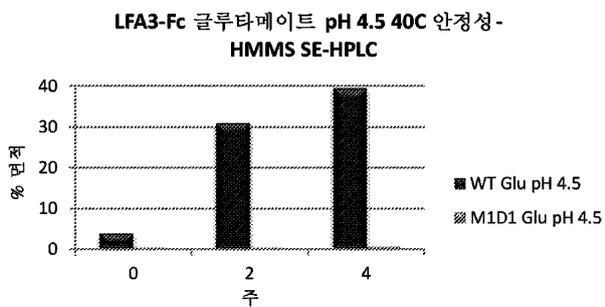
도면31a



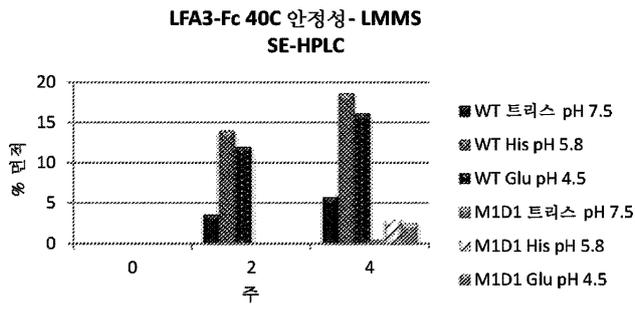
도면31b



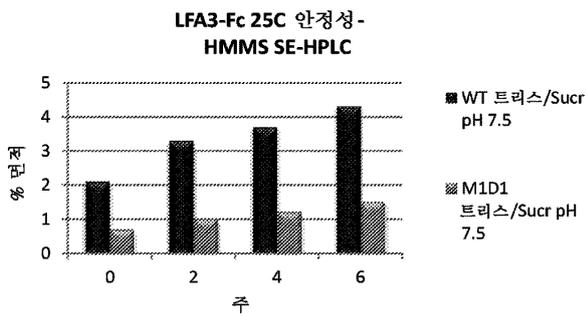
도면31c



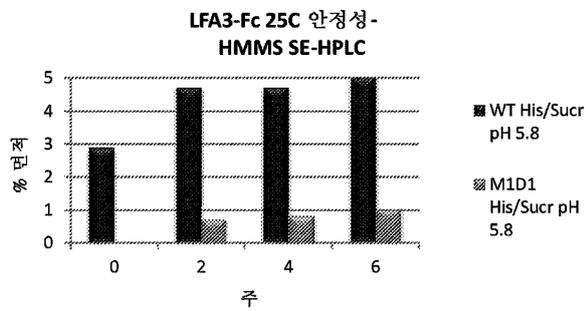
도면31d



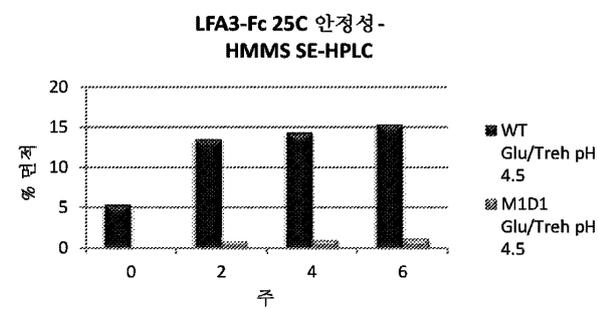
도면32a



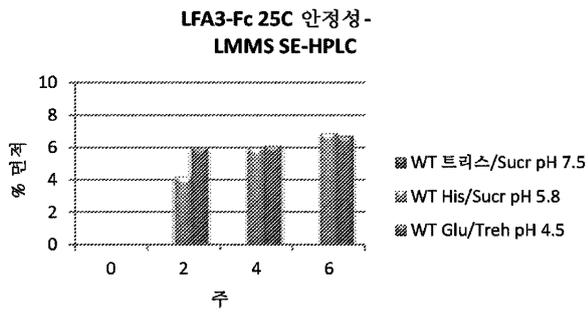
도면32b



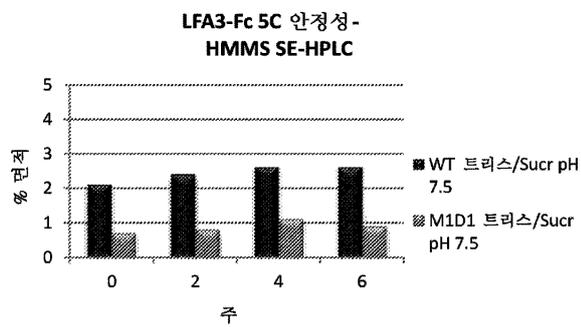
도면32c



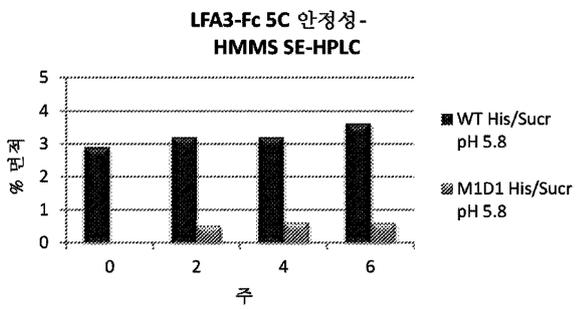
도면32d



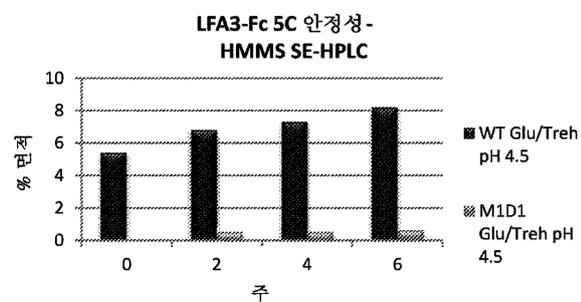
도면33a



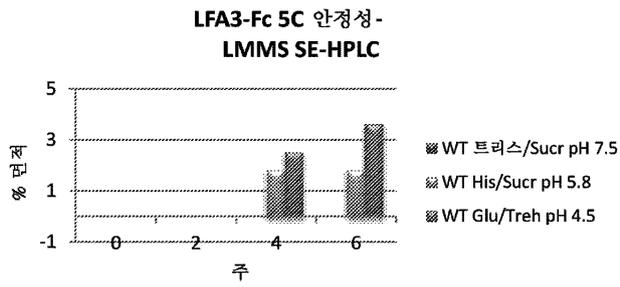
도면33b



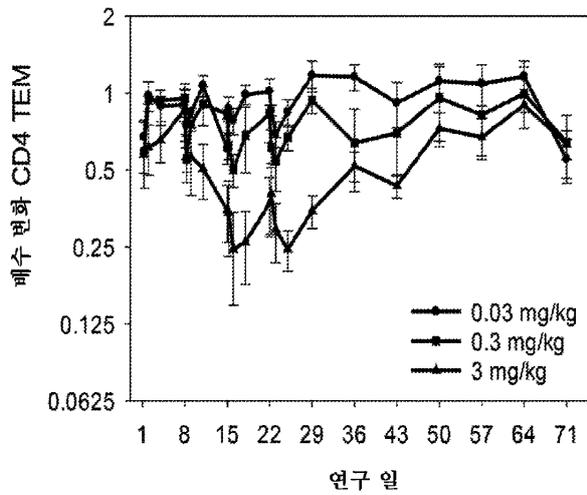
도면33c



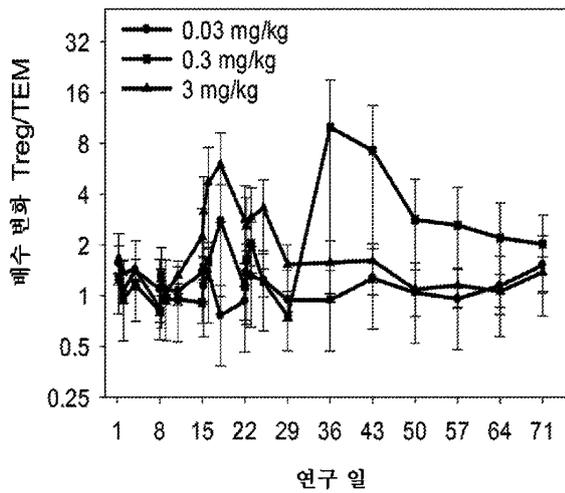
도면33d



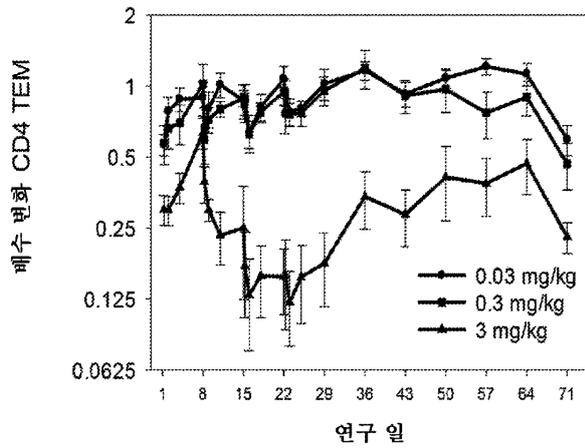
도면34a



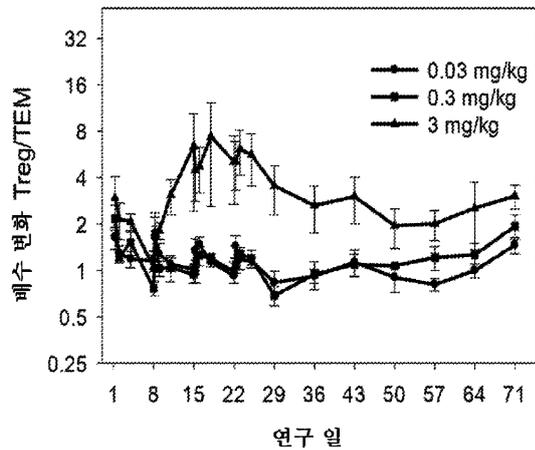
도면34b



도면35a



도면35b



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> PFIZER INC.

THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

<120> LFA3 VARIANTS AND COMPOSITIONS AND USES THEREOF

<130> PC72432A

<150> US 62/650,002

<151> 2018-03-29

<150> US 62/783,986

<151> 2018-12-21

<160> 130

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 1

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

Val Cys Leu Leu His Cys Phe Gly Phe Ile Ser Cys Phe Ser Gln Gln  
                  20                    25                    30

Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His Val Pro Ser Asn  
                  35                    40                    45

Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys Asp Lys Val Ala  
                  50                    55                    60

Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser Phe Lys Asn Arg  
65                    70                    75                    80

Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile Tyr Asn Leu Thr  
                  85                    90                    95

Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro Asn Ile Thr Asp  
                  100                    105                    110

Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Glu Ser Leu Pro Ser Pro Thr  
                  115                    120                    125

Leu Thr Cys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Ile Glu Val Gln Cys Met Ile  
                  130                    135                    140

Pro Glu His Tyr Asn Ser His Arg Gly Leu Ile Met Tyr Ser Trp Asp  
145                    150                    155                    160

Cys Pro Met Glu Gln Cys Lys Arg Asn Ser Thr Ser Ile Tyr Phe Lys  
                  165                    170                    175

Met Glu Asn Asp Leu Pro Gln Lys Ile Gln Cys Thr Leu Ser Asn Pro  
                  180                    185                    190

Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr Cys Ile Pro Ser  
                  195                    200                    205

Ser Gly His Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu Ile Pro Ile Pro Leu Ala  
 210 215 220

Val Ile Thr Thr Cys Ile Val Leu Tyr Met Asn Gly Ile Leu Lys Cys  
 225 230 235 240

Asp Arg Lys Pro Asp Arg Thr Asn Ser Asn  
 245 250

<210> 2  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 2

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

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

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

130 135 140  
 Ile Tyr Phe Lys Met Glu Asn Asp Leu Pro Gln Lys Ile Gln Cys Thr  
 145 150 155 160

Leu Ser Asn Pro Leu Phe Asn Thr Thr Ser Ser Ile Ile Leu Thr Thr  
 165 170 175

Cys Ile Pro Ser Ser Gly His Ser Arg His Arg Tyr Ala Leu Ile Pro  
 180 185 190

Ile Pro Leu Ala Val Ile Thr Thr Cys Ile Val Leu Tyr Met Asn Gly  
 195 200 205

Ile Leu Lys Cys Asp Arg Lys Pro Asp Arg Thr Asn Ser Asn  
 210 215 220

<210> 3

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 3

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30

Asp Lys Val Ala Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser  
 35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65 70 75 80

Asn Ile Thr Asp Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val  
 85 90

<210> 4

<211>

> 319

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 4

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



<222> (46)..(46)  
 <223> M is A or C  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (48)..(48)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <400> 5  
 gagtaacggtt cctttgaagv akgtcntttg gangaaacaa angvamangg tggcagaatt 60  
 agagaatag 69  
 <210> 6  
 <211> 76  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (26)..(26)  
  
 <223> V is A, C or G  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (28)..(28)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (34)..(34)  
 <223> M is A or C  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (41)..(41)  
 <223> V is A, C or G  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (48)..(48)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (53)..(53)  
 <223> N is A, C, G, or T

<220><221> misc\_feature  
 <222> (54)..(54)  
 <223> W is A or T  
  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (56)..(56)  
 <223> R is A or G  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (57)..(57)  
 <223> S is G or C  
 <400> 6  
 gaaaaaaca aaagataaag tggcavaktt avamaatagt vaktttangg ctnwtrsttc 60  
 attaagaat aggttc 76  
 <210> 7  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (18)..(18)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (23)..(23)  
  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (29)..(29)  
 <223> V is A, C or G  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (31)..(31)  
 <223> M is A or C  
 <400> 7  
 gtacgaaatg gagtcccnta atnttacava macaatgaag tttttttgt ac 52  
 <210> 8  
 <211> 81

<212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (19)..(19)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (25)..(25)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
  
 <222> (43)..(43)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (52)..(52)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (59)..(59)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (60)..(60)  
 <223> S is G or C  
 <400> 8  
 gtttacggta atgtgacnt tcacnttccg agtaacgttc cntntaagga antttatks 60  
 aaaaaacaaa aagataaagt g 81  
 <210> 9  
 <211> 78  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (26)..(26)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature

<222> (29)..(29)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (30)..(30)  
 <223> Y is C or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (35)..(35)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (50)..(50)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (56)..(56)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (57)..(57)  
 <223> Y is C or T  
 <400> 9  
 cttatggaaa aaacaaaaag ataaanttky agaanttggag aatagtgagn ttaggkyatt 60  
  
 tagttcattt aagaatag 78  
 <210> 10  
 <211> 67  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (21)..(21)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (36)..(36)  
 <223> R is A or G  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (37)..(37)  
 <223> S is G or C

<220><221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> N is A, C, G or T  
 <400> 10  
 catttaagaa tagggtctat nttgatactg tatccrsttc tnttaccatt tataatttaa 60  
  
 caagtag 67  
 <210> 11  
 <211> 71  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (19)..(19)  
 <223> W is A or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (21)..(21)  
 <223> S is G or C  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (46)..(46)  
 <223> W is A or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (48)..(48)  
 <223> S is G or C  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (52)..(52)  
 <223> N is A, C, G or T  
  
 <400> 11  
 gatgaagacg agtacgaawt sgagtcacct aatattacag acacawtsaa gntttttttg 60  
 tacgtttttg g 71  
 <210> 12  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<220><221> misc\_feature  
<222> (22)..(23)  
<223> N is A, C, G, or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (24)..(24)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (25)..(26)  
<223> N is A, C, G, or T  
<220><221> misc\_feature  
<222>  
> (27)..(27)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (28)..(29)  
<223> N is A, C, G, or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (30)..(30)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (31)..(32)  
<223> N is A, C, G, or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (33)..(33)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (34)..(35)  
<223> N is A, C, G, or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (36)..(36)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (37)..(38)

<223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (39)..(39)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (40)..(41)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (42)..(42)  
 <223> K is G or T  
 <400> 12  
 gaagacgagt acgaaatgga gnnknnknnk nnknnknnkn nkatgaagtt tttttgtac 60  
 gttttg 66  
 <210> 13  
 <211> 65  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221>  
 > misc\_feature  
 <222> (22)..(23)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (24)..(24)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (25)..(26)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (27)..(27)  
 <223> K is G or T  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (28)..(29)  
 <223> N is A, C, G, or T  
 <220><221> misc\_feature

<222> (30)..(30)

<223> K is G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (31)..(32)

<223> N is A, C, G, or T

<220><221> misc\_feature

<222> (33)..(33)

<223> K is G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (34)..(35)

<223> N is A, C, G, or T

<220><221> misc\_feature

<222> (36)..(36)

<223> K is G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (37)..(38)

<223> N is A, C, G, or T

<220><221> misc\_feature

<222> (39)..(39)

<223> K is G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (40)..(41)

<223> N is A, C, G, or T

<220><221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> K is G or T

<400> 13

gaagacgagt acgaaatgga gnnknnknnk nnknnknnkn nktcaagtt tttttgtac 60

gttgg 65

<210> 14

<211> 64

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<220><221> misc\_feature  
<222> (22)..(23)  
<223> N is A, C, G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (24)..(24)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (25)..(26)  
<223> N is A, C, G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (27)..(27)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (28)..(29)  
<223>  
N is A, C, G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (30)..(30)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (31)..(32)  
<223> N is A, C, G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (33)..(33)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (34)..(35)  
<223> N is A, C, G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (36)..(36)  
<223> K is G or T  
<220><221> misc\_feature  
<222> (37)..(38)  
<223> N is A, C, G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (39)..(39)

<223> K is G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (40)..(41)

<223> N is A, C, G or T

<220><221> misc\_feature

<222> (42)..(42)

<223> K is G or T

<400> 14

gaagacgagt acgaattcga gnnknnknnk nnknnknnkn nkttcagtt tttttgtac 60

gttg 64

<210> 15

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 15

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

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 16

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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



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

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80  
 Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val  
                   85                    90

<210> 18

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 18

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

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Phe Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80  
 Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val  
                   85                    90

<210> 19

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 19

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Val Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val

                  85                    90

<210> 20

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 20

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Val Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Phe Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val

85 90

<210> 21

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 21

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Ile Arg Val Phe Ser Ser

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Phe Glu Ser Pro

65 70 75 80

Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val

85 90

<210> 22

<

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 22

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

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

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Phe Glu Ser Pro

65 70 75 80

Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val

85 90

<210> 23

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 23

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro

65 70 75 80

Asn Ile Thr Asp Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val

85 90

<210> 24

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 24

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

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

<210> 25

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 25

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

Pro Ser

<210> 26

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 26

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
                   20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser  
                   35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu  
                   85                    90

<210> 27

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 27

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
                   20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser  
                   35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80



Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65 70 75 80

Asn Ile Thr Asp Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu  
 85 90

<210> 30

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 30

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Arg  
 65 70 75 80

Asn Gly Gly Pro Asp Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu  
 85 90

<210> 31

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 31

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

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Arg  
 65                    70                    75                    80  
 Asn Pro Tyr Arg Arg Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu  
                   85                    90

<210> 32

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 32

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

<210> 33

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 33

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

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Trp  
 65                    70                    75                    80  
 Asn Gly Gly Pro Asp Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu  
                   85                    90

<210> 34

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 34

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

Asn Pro Tyr Arg Arg Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85 90

<210> 35

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 35

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Trp

65 70 75 80

Asn Pro Tyr Arg Asp Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85 90

<210>

36

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 36

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Gly Arg

65 70 75 80

Tyr Pro Tyr Glu Ser Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85 90

<210> 37

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 37

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20 25 30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Val Phe Ser Ser

35 40 45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Phe Glu Ser Trp

65 70 75 80

Glu Pro Gly Arg Glu Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85 90

<210> 38

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 38

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1 5 10 15

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

<210> 39

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 39

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

<210> 40

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 40

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Asp Gly Gly Pro Asp Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85                    90

<210> 41

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 41

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Trp

65                    70                    75                    80

Ser Pro Tyr Lys Ala Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu

85                    90

<210> 42  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 42  
 atgggctggt cctgtatcat cctctttctg gtggccacag ctaccggagt gcatagc 57

<210> 43  
 <211> 678  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 43  
 gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcttgggggg accgtcagtc 60  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggaaga gatgaccaag 420  
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gttggactcc 540  
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600  
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660  
 ctctcctgt ctccgggt 678

<210> 44  
 <211> 276  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 44  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60

gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatcac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 45

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 45

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatcac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat cgagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 46

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 46

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60

gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggatatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatcac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 47

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 47

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60

gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120

agtgaggtta gggatattag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180

tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaatt cgagtccct 240

aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 48

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 48

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60

gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120

agtgagatta gggatattag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180

tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaatt cgagtccct 240

aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 49

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 49

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60

gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttttaga atttgagaat 120

agtgagctta gggatattag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180

tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaatt cgagtccct 240

aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 50

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 50

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttggatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatth aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtcacct 240  
 aatattacag acacaatgaa gttttttttg tacgtt 276

<210> 51

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 51

ttttccaac aaatatatgg tgttgtgtat gggaatgtaa ctttccatgt accaagcaat 60  
 gtgcctttaa aagaggctct atggaaaaaa caaaaggata aagttgcaga actggaaaat 120  
 tctgaattca gagctttctc atctttttaa aatagggttt atttagacac tgtgtcaggt 180  
 agcctcacta tciacaactt aacatcatca gatgaagatg agtatgaaat ggaatcgcca 240  
 aatattactg ataccatgaa gttctttctt taftctctc 279

<210> 52

<211>

> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 52

ttttccaac aaatatatgg tgttgtgtat gggaatgtaa ctttccatgt accaagcaat 60  
 gtgcctttaa aagaggctct atggaaaaaa caaaaggata aagttgcaga actggaaaat 120  
 tctgaattca gagctttctc atctttttaa aatagggttt atttagacac tgtgtcaggt 180  
 agcctcacta tciacaactt aacatcatca gatgaagatg agtatgaaat ggaatcgcca 240  
 aatattactg ataccatgaa gttctttctt taftctctg agagtctgcc cagc 294

<210> 53

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 53  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatagac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgttctc 279

<210> 54

<211> 294

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 54  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatagac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgttcttg agagtctgcc cagc 294

<210> 55

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 55  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatagac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaatt cgagtccct 240  
 aatattacag acacattcaa gttttttttg tacgttctc 279

<210> 56

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 56  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttggatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct 240  
 aatattacag acacaatgaa gttttttttg tacgttctc 279  
 <210> 57  
 <211> 279  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 57  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttggatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccagg 240  
 aatggTggac ctgatttcaa gttttttttg tacgttttg 279  
 <210> 58  
 <211> 279  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <400> 58  
 ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttggatac tgtatccggt 180  
  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccagg 240  
 aatccttata gaaggttcaa gttttttttg tacgttttg 279  
 <210> 59  
 <211> 279  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 59

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccagg 240

aatccttata gagacttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 60

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 60

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccagg 240

aatggggac ctgatttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 61

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 61

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccagg 240

aatccttata gaaggttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 62

<211>

> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 62

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtcttgg 240  
 aatccttata gagacttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 63

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 63

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagggtcgg 240  
 tatccgtatg agtcgttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 64

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 64

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggatatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca tttataatTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaatt cgagagttgg 240  
 gagcctggga gggagttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 65

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 65

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca ttataatTTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggaggctcgg 240  
 tatecttate ggcagttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 66

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 66

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca ttataatTTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagatgcgg 240  
 aatggtggtc ctgatttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 67

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 67

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt 180  
 tctttgacca ttataatTTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggaggcgcgg 240  
 gatggggggtc ctgatttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 68

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 68

ttttcacagc agatttacgg tgttgtttac ggtaatgtga cttttcacgt tccgagtaac 60  
 gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat 120  
 agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttggatac tgtatccggt 180

tctttgacca ttataatTTT aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtcgtgg 240  
 tctccttata aggcgttcaa gttttttttg tacgttttg 279

<210> 69

<211> 319

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 69

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30  
 Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65 70 75 80  
 Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Leu Asp Lys Thr  
 85 90 95  
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser  
 100 105 110  
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg  
 115 120 125  
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

130 135 140  
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 145 150 155 160

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
 165 170 175

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
 195 200 205

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
 210 215 220

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
 225 230 235 240

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
 245 250 255

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 260 265 270

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 275 280 285

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 290 295 300

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 305 310 315

<210> 70

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> misc\_feature

<222> (25)..(25)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (27)..(27)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
<222> (29)..(29)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (32)..(34)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (37)..(37)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (39)..(39)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (42)..(42)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220>

><221> misc\_feature  
<222> (44)..(44)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (46)..(47)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (80)..(80)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (82)..(82)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221> misc\_feature  
<222> (84)..(84)  
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
<220><221>

> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 70  
 Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                   5                   10                   15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Xaa Val Xaa Trp Xaa Lys Gln Xaa  
                   20                   25                   30  
 Xaa Xaa Val Ala Xaa Leu Xaa Asn Ser Xaa Phe Xaa Ala Xaa Xaa Ser  
                   35                   40                   45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
  
                   50                   55                   60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Xaa  
 65                   70                   75                   80  
 Asn Xaa Thr Xaa Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
                   85                   90  
 <210> 71  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (25)..(25)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
  
 <222> (27)..(27)  
 <223> Xaa is F, I, L, V, Nle, M, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (29)..(29)  
 <223> Xaa is K, R, M, T, Q, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (32)..(32)  
 <223> Xaa is K, R, M, T, Q, or N

<220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (33)..(33)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa is K, R, M, T, Q, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (37)..(37)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (39)..(39)

<223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (44)..(44)  
 <223> Xaa is K, R, M, T, Q, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (46)..(46)  
 <223> Xaa is F, Y, L, H, I, N, V, D, A, or Y  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (47)..(47)  
 <223> Xaa is S, T, A, or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (80)..(80)  
 <223> Xaa is P, L, H, R, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (82)..(82)  
 <223> Xaa is F, I, L, V, M, A, or Nle

<220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 71

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Xaa Val Xaa Trp Xaa Lys Gln Xaa

                  20                    25                    30

Xaa Xaa Val Ala Xaa Leu Xaa Asn Ser Xaa Phe Xaa Ala Xaa Xaa Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Xaa

65                    70                    75                    80

Asn Xaa Thr Xaa Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 72

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (25)..(25)

<223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is F, I, L, or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is K, R, M, or T

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is K, R, M, or T

<220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (33)..(33)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (34)..(34)  
 <223> Xaa is K, R, M, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (37)..(37)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220>  
 ><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (39)..(39)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (42)..(42)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (44)..(44)  
 <223> Xaa is K, R, M, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (46)..(46)  
 <223> Xaa is F, Y, L, H, I, N, V, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (47)..(47)  
 <223> Xaa is S, T, A, or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (80)..(80)  
 <223> Xaa is P, L, H, or R  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222>  
 > (82)..(82)  
 <223> Xaa is F, I, L, or V  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)  
 <223> Xaa is D, E, N, K, Q, or H

<220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> X is absent, L, or LESLPS  
 <400> 72  
 Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Xaa Val Xaa Trp Xaa Lys Gln Xaa  
 20 25 30  
 Xaa Xaa Val Ala Xaa Leu Xaa Asn Ser Xaa Phe Xaa Ala Xaa Xaa Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Xaa  
 65 70 75 80  
 Asn Xaa Thr Xaa Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
 85 90  
 <210> 73  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (15)..(15)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (17)..(17)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (23)..(23)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (26)..(26)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (28)..(28)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (35)..(36)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (55)..(55)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220

><221> misc\_feature  
 <222> (60)..(60)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (62)..(62)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (77)..(77)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (86)..(86)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature  
 <222> (88)..(88)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221

> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 73

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Xaa His

1                    5                    10                    15

Xaa Pro Ser Asn Val Pro Xaa Lys Glu Xaa Leu Xaa Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Xaa Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Xaa Asp Thr Val Ser Xaa Ser Xaa Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Xaa Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 74

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa is F, I, L, V, A, or Y

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is F, I, L, V, M, A, or Nle

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> X is F, I, L, V, Nle, M, or A

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (26)..(26)

<223> Xaa is F, I, L, V, M, A, or Nle  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (28)..(28)  
<223> Xaa is W, F, L, C, or Y  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (35)..(35)  
<223> Xaa is F, I, L, V, M, A, or Nle  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (36)..(36)  
<223> Xaa is A, V, S, L, or I  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222>  
> (38)..(38)  
<223> Xaa is F, I, L, V, Nle, M, or A  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (43)..(43)  
<223> Xaa is F, I, L, V, A, or Y  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (45)..(45)  
<223> Xaa is A, V, S, L, or I  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (55)..(55)  
<223> Xaa is F, I, L, V, Nle, M, or A  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (60)..(60)  
<223> Xaa is S, T, A, or G  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (62)..(62)  
<223> Xaa is F, I, L, V, Nle, M, or A  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (77)..(77)  
  
<223> Xaa is M, L, I, or F  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (86)..(86)

<223> Xaa is M, L, I, or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (88)..(88)

<223> Xaa is F, I, L, V, A, or Y

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 74

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Xaa His

1                    5                    10                    15

Xaa Pro Ser Asn Val Pro Xaa Lys Glu Xaa Leu Xaa Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Xaa Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Xaa Asp Thr Val Ser Xaa Ser Xaa Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Xaa Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210>

75

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> Xaa is F, I, L, or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> X is F, I, L, or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (23)..(23)

<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (26)..(26)  
<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (28)..(28)  
<223> Xaa is W, F, L, or C  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (35)..(35)

<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (36)..(36)  
<223> Xaa is A, V, S, or L  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (38)..(38)  
<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (43)..(43)  
<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (45)..(45)  
<223> Xaa is A, V, S, or L  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (55)..(55)  
<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (60)..(60)  
<223> Xaa is S, T, A, or G  
<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (62)..(62)  
<223> Xaa is F, I, L, or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M, L, I, or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (86)..(86)

<223> Xaa is M, L, I, or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (88)..(88)

<223> Xaa is F, I, L, or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 75

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Xaa His

1                    5                    10                    15

Xaa Pro Ser Asn Val Pro Xaa Lys Glu Xaa Leu Xaa Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Xaa Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Xaa Asp Thr Val Ser Xaa Ser Xaa Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Xaa Phe Leu Tyr Val Xaa

85                    90

<210> 76

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> misc\_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (43)..(43)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (45)..(45)

<223>

Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (77)..(77)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (86)..(86)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 76

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Val Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

85                    90

<210> 77

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (36)..(36)  
 <223> Xaa is A, V, S, L, or I  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (38)..(38)  
 <223> Xaa is F, I, L, V, Nle, M, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa is F, I, L, V, A, or Y  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa is A, V, S, L, or I  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)  
 <223> Xaa is M, L, I, or F  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (86)..(86)  
 <223> Xaa is M, L, I, or F  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 77

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



20 25 30  
 Asp Lys Val Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro  
 65 70 75 80  
 Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

85 90

<210> 79

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is V, L, or A

<220><221> MISC\_FEATURE

<222

> (38)..(38)

<223> Xaa is F or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is V, I, L, or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A, V, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M, F, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (86)..(86)

<223> Xaa is F, M, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 79

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
                   20                    25                    30

Asp Lys Val Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser  
                   35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
                   85                    90

<210> 80

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is V or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is V, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (86)..(86)

<223> Xaa is F or M

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 80

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Xaa Glu Phe Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 81

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is V or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is V, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A or V  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (77)..(77)  
 <223> Xaa is M or F  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 81  
 Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30  
 Asp Lys Val Xaa Glu Phe Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro  
 65 70 75 80  
 Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
 85 90  
 <210> 82  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (43)..(43)  
 <223> Xaa is V or I  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa is A or V  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (77)..(77)

<223> Xaa is M or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 82

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15  
Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30  
Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45  
Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60  
Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Ser Pro

65                    70                    75                    80  
Asn Ile Thr Asp Thr Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 83

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 83

Ser Pro Asn Ile Thr Asp Thr

1                    5

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is S, G, A, M, or T

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is R, W, P, or A

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is N, Y, S, E, D, Q, H, K, or R

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is P, G, I, L, V, M, A, F, or Nle

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Y, G, T, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is R, E, K, P, D, or N

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is R, D, S, Q, A, E, T, or S

<400> 84

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is S, G, A, or M

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is R, W, or P

<220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P, G, or I  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y, G, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R, E, K, P, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is R, D, S, Q, A, E, or T  
 <400> 85  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1                    5  
 <210> 86  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa is S, G, A, or M  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa is R or W  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R, E, K, or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is R, D, S, Q, A, or E  
 <400> 86  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1                    5  
 <210> 87  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223>  
 > Xaa is R, W, P, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P, G, I, L, V, M, A, F, or Nle  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y, G, T, or S  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R, P, D, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is R, D, T, or S

<400> 87

Ser Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa

1                    5

<210> 88

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is R, W, or P

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is P, G, or I

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Y, G, or T

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is R, P, or D

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is R, D, or T

<400> 88

Ser Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa

1                    5

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is R or W  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is R or D  
 <400> 89  
 Ser Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1                    5  
 <210> 90  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa is S, G, A, M, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> Xaa is R, W, P, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, D, Q, H, K, or R  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P, G, I, L, V, M, A, F, or Nle  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y, G, T, or S  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R, E, K, P, D, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is D, S, Q, A, E, T, or S  
 <400> 90  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1                    5

<210> 91  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)  
 <223> Xaa is S, G, A, or M  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)  
 <223> X is R, W, or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P, G, or I

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y, G, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> Xaa is R, E, K, P, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is D, S, Q, A, E, or T  
 <400> 91  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1                    5  
 <210> 92  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> Xaa is S, G, A, or M  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
  
 <223> Xaa is R or W  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa is P or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> Xaa is Y or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa is R, E, K, or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(7)  
 <223> Xaa is D, S, Q, A, or E  
 <400> 92

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1                    5

<210> 93

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (36)..(36)

<223> Xaa is V, L, or A

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (38)..(38)

<223> Xaa is F or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (43)..(43)

<223> Xaa is V, I, L, or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A, V, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M, F, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (79)..(79)

<223> Xaa is S, G, A, or M

<220><221> MISC\_FEATURE

<222

> (80)..(80)

<223> Xaa is R or W

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (81)..(81)

<223> Xaa is N, Y, S, E, or D

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (82)..(82)

<223> Xaa is P or G

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (83)..(83)

<223> Xaa is Y or G

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (84)..(84)

<223> Xaa is R, E, K, or P

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is R, D, S, Q, A, or E

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (86)..(86)

<223> Xaa is F, M, I, or L

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 93

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa

65                    70                    75                    80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 94

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (36)..(36)  
<223> Xaa is V or A  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (38)..(38)  
  
<223> Xaa is F or L  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (43)..(43)  
<223> Xaa is V, I, or F  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (45)..(45)  
<223> Xaa is A or V  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (77)..(77)  
<223> Xaa is M or F  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (79)..(79)  
<223> Xaa is S, G, A, or M  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (80)..(80)  
<223> Xaa is R or W  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (81)..(81)  
<223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (82)..(82)  
  
<223  
> Xaa is P or G  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (83)..(83)  
<223> Xaa is Y or G  
<220><221> MISC\_FEATURE  
<222> (84)..(84)

<223> Xaa is R, E, K, or P

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is R, D, S, Q, A, or E

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (86)..(86)

<223> Xaa is F or M

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 94

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Xaa Glu Xaa Glu Asn Ser Glu Xaa Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa

65                    70                    75                    80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 95

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> misc\_feature

<222> (45)..(45)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (77)..(77)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc\_feature

<222> (79)..(85)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 95

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
                   20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser  
                   35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa  
 65                    70                    75                    80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
                   85                    90

<210> 96

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A, V, L, or I

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M, F, L, or I

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (79)..(79)  
 <223> Xaa is S, G, A, M, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (80)..(80)  
 <223> Xaa is R, W, P, or A  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (81)..(81)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, D, Q, H, K, or R  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (82)..(82)  
 <223> Xaa is P, G, I, L, V, M, A, F, or Nle  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (83)..(83)  
 <223> Xaa is Y, G, T, or S  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)

<223> Xaa is R, E, K, P, D, or N  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (85)..(85)  
 <223> Xaa is R, D, S, Q, A, E, T, or S  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 96

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



<222> (85)..(85)  
 <223> Xaa is R, D, S, Q, A, E, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 97  
 Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30  
  
 Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa  
 65 70 75 80  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa  
 85 90  
  
 <210>  
 98  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (45)..(45)  
 <223> Xaa is A or V  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (77)..(77)  
 <223> Xaa is M or F  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (79)..(79)  
 <223> Xaa is S, G, A, or M  
 <220><221> MISC\_FEATURE

<222> (80)..(80)  
 <223> Xaa is R or W  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (81)..(81)  
 <223> Xaa is N, Y, S, E, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (82)..(82)  
 <223>  
 > Xaa is P or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (83)..(83)  
 <223> Xaa is Y or G  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)  
 <223> Xaa is R, E, K, or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (85)..(85)  
 <223> Xaa is R, D, S, Q, A, or E  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 98  
 Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1 5 10 15  
 Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
 20 25 30  
 Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser  
 35 40 45  
 Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
 50 55 60  
 Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa  
 65 70 75 80  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

85

90

<210> 99  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (80)..(80)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> misc\_feature  
 <222> (82)..(85)  
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)  
 <223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 99

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

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

65	70	75	80
Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa			

85

90

<210> 100  
 <211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (80)..(80)

<223> Xaa is R, W, P, or A

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (82)..(82)

<223> Xaa is P, G, I, L, V, M, A, F, or Nle

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (83)..(83)

<223> Xaa is Y, G, T, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (84)..(84)

<223> Xaa is R, P, D, or N

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is R, D, T, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 100

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Xaa

65                    70                    75                    80

Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

85                    90

<210>

101

<211> 93  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (80)..(80)  
 <223> Xaa is R, W, or P  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (82)..(82)  
 <223> Xaa is P, G, or I  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (83)..(83)  
 <223> Xaa is Y, G, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (84)..(84)  
 <223> Xaa is R, P, or D  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (85)..(85)  
 <223> Xaa is R, D, or T  
 <220><221> MISC\_FEATURE  
 <222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS  
 <400> 101

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

Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

85

90

<210> 102

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (80)..(80)

<223> Xaa is R or W

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (82)..(82)

<223> Xaa is P or G

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (83)..(83)

<223> Xaa is Y or G

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (84)..(84)

<223> Xaa is R or P

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is R or D

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 102

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1

5

10

15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20

25

30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Ala Phe Ser Ser

35

40

45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile



<223> Xaa is R, E, K, P, D, or N

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is D, S, Q, A, E, T, or S

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 103

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15  
Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30  
Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45  
Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60  
Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa

65                    70                    75                    80  
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 104

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (45)..(45)

<223> Xaa is A or V

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (77)..(77)

<223> Xaa is M or F

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (79)..(79)

<223> Xaa is S, G, A, or M

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (80)..(80)

<223> Xaa is R, W, or P

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (81)..(81)

<223> Xaa is N, Y, S, E, or D

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (82)..(82)

<223> Xaa is P, G, or I

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (83)..(83)

<223> Xaa is Y, G, or T

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (84)..(84)

<223> Xaa is R, E, K, P, or D

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (85)..(85)

<223> Xaa is D, S, Q, A, E, or T

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 104

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser

35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa



<223> Xaa is D, S, Q, A, or E

<220><221> MISC\_FEATURE

<222> (93)..(93)

<223> Xaa is absent, L, or LESLPS

<400> 105

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His

1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys

                  20                    25                    30

Asp Lys Val Val Glu Phe Glu Asn Ser Glu Val Arg Xaa Phe Ser Ser

                  35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile

                  50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Xaa Glu Xaa Xaa

65                    70                    75                    80

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Phe Lys Phe Phe Leu Tyr Val Xaa

                  85                    90

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 106

Ser Arg Asn Gly Gly Pro Asp

1                    5

<210> 107

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 107

Ser Arg Asn Pro Tyr Arg Arg

1                    5  
<210> 108  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<400> 108  
Ser Arg Asn Pro Tyr Arg Asp

1                    5  
<210> 109  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<400> 109  
Ser Trp Asn Gly Gly Pro Asp

1                    5  
<210> 110  
<211> 7  
<212>  
> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<400> 110

Ser Trp Asn Pro Tyr Arg Arg  
1                    5  
<210> 111  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT  
<400> 111

Ser Trp Asn Pro Tyr Arg Asp  
1                    5  
<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 112

Gly Arg Tyr Pro Tyr Glu Ser

1                    5

<210> 113

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 113

Ser Trp Glu Pro Gly Arg Glu

1                    5

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 114

Ala Arg Tyr Pro Tyr Arg Gln

1                    5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 115

Met Arg Asn Gly Gly Pro Asp

1                    5

<210> 116

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 116

Ala Arg Asp Gly Gly Pro Asp

1                    5

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 117

Ser Trp Ser Pro Tyr Lys Ala

1                    5

<210> 118

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 118

Leu Glu Ser Leu Pro Ser

1                    5

<210> 119

<211>

> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 119

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

1                    5                    10                    15

Ser Ile Glu Val

20

<210> 120

<211> 318

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 120

Phe Ser Gln Gln Ile Tyr Gly Val Val Tyr Gly Asn Val Thr Phe His  
 1                    5                    10                    15

Val Pro Ser Asn Val Pro Leu Lys Glu Val Leu Trp Lys Lys Gln Lys  
                   20                    25                    30

Asp Lys Val Ala Glu Leu Glu Asn Ser Glu Phe Arg Ala Phe Ser Ser  
                   35                    40                    45

Phe Lys Asn Arg Val Tyr Leu Asp Thr Val Ser Gly Ser Leu Thr Ile  
                   50                    55                    60

Tyr Asn Leu Thr Ser Ser Asp Glu Asp Glu Tyr Glu Met Glu Ser Pro  
 65                    70                    75                    80

Asn Ile Thr Asp Thr Met Lys Phe Phe Leu Tyr Val Asp Lys Thr His  
                   85                    90                    95

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val  
                   100                    105                    110

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
                   115                    120                    125

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
                   130                    135                    140

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 145                    150                    155                    160

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
                   165                    170                    175

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
                   195                    200                    205

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





<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 122

```

atgggctggt cctgtatcat cctctttctg gtggccacag ctaccggagt gcatagcttt      60
tcacagcaga ttacagggtg tgtttacggt aatgtgactt ttcacgttcc gagtaacgtt      120
cctttgaagg aagtcttatg gaaaaaacia aaagataaag ttgtagaatt tgagaatagt      180
gaggttaggg catttagtcc atttaagaat agggctctatt tggatactgt atccggttct      240
ttgaccattt ataatttaac aagtagtgat gaagacgagt acgaaatgga gtcccctaat      300
attacagaca cattcaagtt tttttgtac gttctcgaca aaactcacac atgccaccg      360

tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc ttttcccc aaaceccaag      420
gacaccctca tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggggtgga cgtgagccac      480
gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag      540
acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcacctc      600
ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctcaa caaagcctc      660
ccagccccc tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg      720
tacaccctgc ccccatcccg ggaagagatg accaagaacc aggtcagcct gacctgctg      780

gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag      840
aacaactaca agaccacgcc tcccgtgttg gactccgacg gctccttctt cctctacagc      900
aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg      960
catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc ggg      1014

```

<210> 123

<211> 957

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 123

```

ttttcacagc agatttacgg tgttttttac ggtaaatgtga cttttcacgt tccgagtaac      60
gttcctttga aggaagtctt atggaaaaaa caaaaagata aagttgtaga atttgagaat      120

agtgaggtta gggcatttag ttcatttaag aatagggtct atttgatac tgtatccggt      180
tctttgacca tttataattt aacaagtagt gatgaagacg agtacgaaat ggagtccct      240
aatattacag acacattcaa gtttttttg tacgttctcg acaaaactca cacatgccca      300

```

ccgtgccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaacc 360  
 aaggacacc tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 420  
 cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 480  
 aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 540  
  
 gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 600  
 ctcccagccc ceatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggacgccccg agaaccacag 660  
 gtgtacacc tgccccatc ccggaagag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc 720  
 ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcgagccg 780  
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ttggactccg acggctcctt ctctcttac 840  
 agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 900  
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 957

<210> 124

<211> 1041

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 124

atggttgctg ggagcgacg gggcgggcc ctgggggtcc tcagcgtggt ctgcctgctg 60  
 cactgctttg gtttcatcag ctgtttttcc caacaaatat atggtgttgt gtatgggaat 120  
 gtaactttcc atgtaccaag caatgtgcct ttaaaagagg tcctatggaa aaaacaaaag 180  
 gataaagttg cagaactgga aaattctgaa tcagagctt tctcatcttt taaaaatagg 240  
 gtttatttag aactgtgtc aggtagcctc actatctaca acttaacatc atcagatgaa 300  
 gatgagtatg aaatggaatc gccaaatatt actgatacca tgaagtctt tctttatgtc 360  
  
 gacaaaactc acacatgcc accgtgcca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 420  
 ttctcttcc cccaaaacc caaggacacc tcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 480  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 540  
 ggctggagg tgataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac 600  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 660  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 720  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 780  
  
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cggcgtggag 840

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gttggactcc 900  
gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 960  
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1020  
ctctccctgt ctccgggtaa a 1041

<210> 125

<211> 957

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 125

ttttccaac aaatatatgg tgttgtgtat gggaatgtaa ctttccatgt accaagcaat 60

gtgcctttaa aagaggtcct atggaaaaaa caaaaggata aagttgcaga actggaaaat 120

tctgaattca gagctttctc atcttttaaa aatagggttt atttagacac tgtgtcaggt 180

agcctcacta tctacaactt aacatcatca gatgaagatg agtatgaaat ggaatcgcca 240

aatattactg ataccatgaa gttctttctt tatgtcgaca aaactcacac atgccaccg 300

tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag 360

gacaccctca tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac 420

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 480

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 540

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtca aggtctccaa caaagcctc 600

ccagccccc tggagaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 660

tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct gacctgctg 720

gtcaaaggct tctatcccag cgacatgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 780

aacaactaca agaccagcc tcccgtgttg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 840

aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 900

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 957

<210> 126

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 126

ttttccaac aaatatatgg tgttgtgtat gggaatgtaa ctttccatgt accaagcaat 60  
 gtgcctttaa aagaggtcct atggaaaaaa caaaaggata aagttgcaga actggaaaat 120  
 tctgaattca gagctttctc atctttttaa aatagggttt atttagacac tgtgtcaggt 180  
 agcctcacta tctacaactt aacatcatca gatgaagatg agtatgaaat ggaatcgcca 240  
 aatattactg ataccatgaa gttctttctt taigtc 276

<210> 127

<211> 681

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 127

gacaaaaactc acacatgccc accgtgccca gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc 60  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 120  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 180  
 ggcgtaggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 240  
 cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 300  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 360  
  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggatga gctgaccaag 420  
 aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 480  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gttggactcc 540  
 gacggctcct tcttctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 600  
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 660  
 ctctcctgt ctccgggtaa a 681

<210> 128

<211> 227

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SYNTHETIC CONSTRUCT

<400> 128

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met



