



(12) Translation of
European patent specification

(11) NO/EP 3303373 B1

NORWAY

(19) NO
(51) Int Cl.
C07K 14/25 (2006.01)

Norwegian Industrial Property Office

(45)	Translation Published	2020.08.31
(80)	Date of The European Patent Office Publication of the Granted Patent	2020.04.08
(86)	European Application Nr.	16729701.9
(86)	European Filing Date	2016.05.27
(87)	The European Application's Publication Date	2018.04.11
(30)	Priority	2015.05.30, US, 201562168758 P 2015.05.30, US, 201562168759 P 2015.05.30, US, 201562168760 P 2015.05.30, US, 201562168761 P 2015.05.30, US, 201562168762 P 2015.05.30, US, 201562168763 P
(84)	Designated Contracting States:	AL ; AT ; BE ; BG ; CH ; CY ; CZ ; DE ; DK ; EE ; ES ; FI ; FR ; GB ; GR ; HR ; HU ; IE ; IS ; IT ; LI ; LT ; LU ; LV ; MC ; MK ; MT ; NL ; NO ; PL ; PT ; RO ; RS ; SE ; SI ; SK ; SM ; TR
(73)	Proprietor	Molecular Templates, Inc., 9301 Amberglen Boulevard Suite 100, Austin, TX 78729, USA
(72)	Inventor	POMA, Eric, 165 Christopher Street, New York, NY 10014, USA WILLERT, Erin, 2230 Mockingbird Drive, Round Rock, TX 78681, USA ROBINSON, Garrett Lee, 14301 Mowsbury Drive, Austin, TX 78717, USA RAJAGOPALAN, Sangeetha, 1524 Westmeadow Trail, Round Rock, TX 78665, USA BRIESCHKE, Brigitte, 3307 Goodwin Ave., Austin, TX 78702, USA
(74)	Agent or Attorney	ZACCO NORWAY AS, Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, Norge

(54)	Title	DE-IMMUNIZED, SHIGA TOXIN A SUBUNIT SCAFFOLDS AND CELL-TARGETING MOLECULES COMPRISING THE SAME
------	-------	---

(56)	References Cited:	WO-A1-2015/113005, WO-A1-2007/033497 OSICKA ET AL: "Delivery of CD8+ T-cell epitopes into major histocompatibility complex class I antigen presentation", INFECTION AND IMMUNITY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 68, no. 1, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 247-256, XP002263297, ISSN: 0019-9567, DOI: 10.1128/IAI.68.1.247-256.2000 Rajagopalan S ET AL: "CD38-specific Engineered Toxin Body: Therapeutic potential for multiple myeloma", , 18 April 2014 (2014-04-18), XP055140507, Retrieved from the Internet:
------	----------------------	---

URL:http://www.moleculartemplates.com/pdf/press/MTEM_2014AACR1.pdf [retrieved on 2014-09-16]

N. HAICHEUR ET AL: "The B Subunit of Shiga Toxin Fused to a Tumor Antigen Elicits CTL and Targets Dendritic Cells to Allow MHC Class I-Restricted Presentation of Peptides Derived from Exogenous Antigens", THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 165, no. 6, 15 September 2000 (2000-09-15), pages 3301-3308, XP055296135, US ISSN: 0022-1767, DOI: 10.4049/jimmunol.165.6.3301

LUDGER JOHANNES ET AL: "Shiga toxins - from cell biology to biomedical applications", NATURE REVIEWS. MICROBIOLOGY, 27 January 2010 (2010-01-27), XP055296136, GB ISSN: 1740-1526, DOI: 10.1038/nrmicro2279 cited in the application

VASSO APOSTOLOPOULOS' ET AL: "MUC1 peptide epitopes associated with five different H-2 class I molecules", EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, WILEY - V C H VERLAG GMBH & CO. KGAA, DE, vol. 27, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 2579-2587, XP007911967, ISSN: 0014-2980, DOI: 10.1002/EJL.1830271017 [retrieved on 1997-01-01]

Enclosed is a translation of the patent claims in Norwegian. Please note that as per the Norwegian Patents Acts, section 66i the patent will receive protection in Norway only as far as there is agreement between the translation and the language of the application/patent granted at the EPO. In matters concerning the validity of the patent, language of the application/patent granted at the EPO will be used as the basis for the decision. The patent documents published by the EPO are available through Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>) or via the search engine on our website here: <https://search.patentstyret.no/>

[EP3303373]

1

Patentkrav**1.** Shiga-toksineffektorpolypeptid omfattende:

i) en innebygd eller innsatt, heterolog CD8+ T-celle-epitop; og

5 ii) en forstyrrelse i minst én endogen B-celle- og/eller CD4+ T-celle-epitopregion som ikke overlapper med den innebygde eller innsatte, heterologe CD8+ T-celle-epitopen;

hvor i Shiga-toksineffektorpolypeptidet er i stand til å utvise en Shiga-toksineffektorfunksjon valgt fra én eller flere av:

10 å rette intracellulær routing mot cytosolet i en celle i hvilken polypeptidet er til stede,

å rette intracellulær routing med en last, inhibere en ribosomfunksjon, enzymatisk inaktivere et ribosom, og cytotoxiskitet; og

15 hvor i Shiga-toksineffektorpolypeptidet omfatter eller består av en sekvens som er minst 85 % identisk med en sekvens valgt fra:

(i) aminosyrer 75 til 251 ifølge SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 eller SEQ ID NO: 3;

(ii) aminosyrer 1 til 241 ifølge SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 eller SEQ ID NO: 3;

(iii) aminosyrer 1 til 251 ifølge SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 eller SEQ ID NO: 3; og

20 (iv) aminosyrer 1 til 261 ifølge SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 eller SEQ ID NO: 3.

2. Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 1, omfattende en innebygd, heterolog CD8+ T-celle-epitop; hvor i den innebygde, heterologe CD8+ T-celle-epitopen erstatter et ekvivalent antall aminosyrerester i et parentalt Shiga-toksineffektorpolypeptid, slik at Shiga-toksineffektorpolypeptidet har samme totale antall aminosyrer som det parentale Shiga-toksineffektorpolypeptidet.

25

3. Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 1 eller krav 2, hvor i Shiga-toksineffektorpolypeptidet er i stand til intracellulær levering av den innebygde eller innsatte, heterologe CD8+ T-celle-epitopen fra et tidlig endosomalt kammer i en celle i hvilken Shiga-toksineffektorpolypeptidet er til stede, til et MHC klasse I-molekyl til cellen; eventuelt hvor i Shiga-toksineffektorpolypeptidet er i stand til å utvise én eller flere Shiga-toksineffektorfunksjoner i tillegg til intracellulær

30

[EP3303373]

levering av den innebygde heterologe CD8+ T-celle-epitopen fra et tidlig endosomalt kammer i en celle i hvilken Shiga-toksineffektorpolypeptidet er til stede, til et MHC klasse I-molekyl til cellen.

- 5 **4.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-3, hvori forstyrrelsen omfatter en mutasjon, i forhold til en villtype Shiga-toksin A-underenhet, i B-celle- og/eller CD4+ T-celle-epitopregionen valgt fra gruppen av nativt posisjonerte Shiga-toksin A-underenhetregioner bestående av:
- 10 1-15 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 3-14 ifølge SEQ ID NO:3; 26-37 ifølge SEQ ID NO:3; 27-37 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 39-48 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 42-48 ifølge SEQ ID NO:3; 53-66 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, eller SEQ ID NO:3; 94-115 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 141-153 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 140-156 ifølge SEQ ID NO:3; 179-190 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 179-191 ifølge SEQ ID NO:3; 204 ifølge SEQ ID NO:3; 205 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 210-218 ifølge SEQ ID NO:3; 240-260 ifølge SEQ ID NO:3; 243-257 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 254-268 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 262-278 ifølge SEQ ID NO:3; 281-297 ifølge SEQ ID NO:3; 285-293 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 4-33 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 34-78 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 77-103 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 128-168 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 160-183 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 236-258 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; og 274-293 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2.
- 15
- 20
- 25 **5.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-4, hvori den innebygde eller innsatte, heterologe CD8+ T-celle-epitopen forstyrrer den endogene B-celle-epitop- og/eller CD4+ T-celle-epitopregionen valgt fra gruppen av nativt posisjonerte Shiga-toksin A-underenhetsregioner bestående av:
- 30 1-15 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 3-14 ifølge SEQ ID NO:3; 26-37 ifølge SEQ ID NO:3; 27-37 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 39-48 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 42-48 ifølge SEQ ID NO:3; 53-66 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 94-115 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 141-153 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 140-156 ifølge SEQ

[EP3303373]

5 ID NO:3; 179-190 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 179-191 ifølge SEQ ID NO:3; 204 ifølge SEQ ID NO:3; 205 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 210-218 ifølge SEQ ID NO:3; 240-260 ifølge SEQ ID NO:3; 243-257 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 254-268 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 262-278 ifølge SEQ ID NO:3; 281-297 ifølge SEQ ID NO:3; 285-293 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 4-33 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 34-78 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 77-103 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 128-168 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 160-183 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 236-258 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; og 274-293 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2.

15 **6.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, som omfatter forstyrrelser i minst to, tre, fire, fem, seks, sju, åtte eller flere endogene B-celle- og/eller CD4+ T-celle-epitopregioner.

20 **7.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-6, hvori minst én forstyrrelse omfatter en aminosyrerests substitusjon i forhold til en villtype Shiga-toksin A-underenhet; eventuelt hvori minst én forstyrrelse omfatter en flerhet aminosyrerests substitusjoner i epitopregionen i forhold til en villtype Shiga-toksin A-underenhet.

8. Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 7, hvori:
 (i) minst én substitusjon oppstår ved den nativt posisjonerte Shiga-toksin A-underenhet-aminosyreresten valgt fra gruppen bestående av:
 25 1 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 4 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 6 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 8 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 9 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 11 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 12 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 33 ifølge SEQ ID NO:1 eller
 30 SEQ ID NO:2; 43 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 44 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 45 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 46 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 47 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 48 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 49 ifølge SEQ ID NO:1,

[EP3303373]

SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 50 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 51
 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 53 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2;
 54 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 55 ifølge SEQ ID NO:1
 eller SEQ ID NO:2; 56 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 57
 5 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 58 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ
 ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 59 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID
 NO:3; 60 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 61 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ
 ID NO:2; 62 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 84 ifølge SEQ ID NO:1 eller
 SEQ ID NO:2; 88 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 94 ifølge
 10 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 96 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID
 NO:2 eller SEQ ID NO:3; 104 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 105 ifølge
 SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 107 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ
 ID NO:3; 108 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 109 ifølge SEQ ID NO:1,
 SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 110 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 111
 15 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 112 ifølge SEQ ID NO:1,
 SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 141 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ
 ID NO:3; 147 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 154 ifølge
 SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 179 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ
 ID NO:3; 180 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 181 ifølge SEQ ID NO:1 eller
 20 SEQ ID NO:2; 183 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 184 ifølge
 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 185 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ
 ID NO:2; 186 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ ID NO:3; 187 ifølge
 SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 188 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 189
 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 197 ifølge SEQ ID NO:3; 198 ifølge SEQ
 25 ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 204 ifølge SEQ ID NO:3; 205 ifølge SEQ ID NO:1 eller
 SEQ ID NO:2; 247 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 247 ifølge SEQ ID NO:3;
 248 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 250 ifølge SEQ ID NO:3; 251 ifølge
 SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; 264 ifølge SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2 eller SEQ
 ID NO:3; 265 ifølge SEQ ID NO:1 eller SEQ ID NO:2; og 286 ifølge SEQ ID NO:1
 30 eller SEQ ID NO:2;

(ii) minst én substitusjon er valgt fra gruppen bestående av:

D til A, D til G, D til V, D til L, D til I, D til F, D til S, D til Q, D til M, D til R, E til A,
 E til G, E til V, E til L, E til I, E til F, E til S, E til Q, E til N, E til D, E til M, E til R, F

[EP3303373]

5

til A, F til G, F til V, F til L, F til I, G til A, G til P, H til A, H til G, H til V, H til L, H til I, H til F, H til M, I til A, I til V, I til G, I til C, K til A, K til G, K til V, K til L, K til I, K til M, K til H, L til A, L til V, L til G, L til C, N til A, N til G, N til V, N til L, N til I, N til F, P til A, P til G, P til F, R til A, R til G, R til V, R til L, R til I, R til F, R til M, R til Q, R til S, R til K, R til H, S til A, S til G, S til V, S til L, S til I, S til F, S til M, T til A, T til G, T til V, T til L, T til I, T til F, T til M, T til S, V til A, V til G, Y til A, Y til G, Y til V, Y til L, Y til I, Y til F, Y til M og Y til T; og/eller

(iii) minst én substitusjon er valgt fra gruppen av substitusjoner på native posisjoner i en Shiga-toksin A-underenhet bestående av:

- 10 K1 til A, G, V, L, I, F, M eller H; T4 til A, G, V, L, I, F, M eller S; D6 til A, G, V, L, I, F, S, Q eller R; S8 til A, G, V, I, L, F eller M; T9 til A, G, V, I, L, F, M eller S; S9 til A, G, V, L, I, F eller M; K11 til A, G, V, L, I, F, M eller H; T12 til A, G, V, I, L, F, M, S eller K; S12 til A, G, V, I, L, F eller M; S33 til A, G, V, L, I, F, M eller C; S43 til A, G, V, L, I, F eller M; G44 til A eller L; S45 til A, G, V, L, I, F eller M; T45 til A, G, V, L, I, F eller M; G46 til A eller P; D47 til A, G, V, L, I, F, S, M eller Q; N48 til A, G, V, L, M eller F; L49 til A, V, C eller G; Y49 til A, G, V, L, I, F, M eller T; F50 til A, G, V, L, I eller T; A51 til V; D53 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; V54 til A, G, I eller L; R55 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; G56 til A eller P; 157 til A, G, V eller M; L57 til A, V, C, G, M eller F; D58 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; P59 til A, G eller F; E60 til A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M, T eller R; E61 til A, G, V, L, I, F, S, Q, N, D, M eller R; G62 til A; R84 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; V88 til A eller G; 188 til A, V, C eller G; D94 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; S96 til A, G, V, I, L, F eller M; T104 til A, G, V, L, I, F, M; eller N; A105 til L; T107 til A, G, V, L, I, F, M eller P; S107 til A, G, V, L, I, F, M eller P; L108 til A, V, C eller G; S109 til A, G, V, I, L, F eller M; T109 til A, G, V, I, L, F, M eller S; G110 til A; S112 til A, G, V, L, I, F eller M; D111 til A, G, V, L, I, F, S, Q eller T; S112 til A, G, V, L, I, F eller M; D141 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; G147 til A; V154 til A eller G. R179 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; T180 til A, G, V, L, I, F, M eller S; T181 til A, G, V, L, I, F, M eller S; D183 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; D184 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; L185 til A, G, V eller C; S186 til A, G, V, I, L, F eller M; G187 til A; R188 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; S189 til A, G, V, I, L, F eller M; D198 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; R204 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; R205 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; S247 til A, G, V, I, L, F eller M; Y247 til A, G, V, L, I,
- 15
- 20
- 25
- 30

[EP3303373]

F eller M; R248 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; R250 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; R251 til A, G, V, L, I, F, M, Q, S, K eller H; D264 til A, G, V, L, I, F, S eller Q; G264 til A; og T286 til A, G, V, L, I, F, M eller S.

5 **9.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-8, hvori Shiga-toksineffektorpolypeptidet omfatter eller består av polypeptidet vist i en hvilken som helst av:

SEQ ID NO:5, som ytterligere omfatter: (i) en innebygd eller innsatt, heterolog CD8+ T-celle-epitop som ikke overlapper med den minst ene forstyrrede, endogene B-celle- og/eller CD4+ T-celle-epitopregionen; eller

10 SEQ ID NO: 4, som ytterligere omfatter: (i) en innebygd eller innsatt, heterolog CD8+ T-celle-epitop; og (ii) en forstyrrelse i minst én endogen, B-celle- og/eller CD4+ T-celle-epitop som ikke overlapper med den innebygde eller innsatte, heterologe CD8+ T-celle-epitopen.

15 **10.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, hvori Shiga-toksineffektorpolypeptidet er i stand til å utvise en ribosominhiberingsaktivitet med en halv-maksimal inhiberende konsentrasjons (IC₅₀) -verdi på 10 000 pikomol eller mindre.

20 **11.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-10, hvori Shiga-toksineffektorpolypeptidet omfatter én eller flere mutasjoner i forhold til en naturlig forekommende A-underenhet av et medlem i Shiga-toksinfamilien som endrer en enzymatisk aktivitet til Shiga-toksineffektorpolypeptidet, der mutasjonen er valgt fra minst én aminosyrerestdeletering, -innsetting eller -substitusjon;

25 eventuelt hvori den ene eller de flere mutasjonene reduserer eller fjerner en cytotoxissitet til Shiga-toksineffektorpolypeptidet.

30 **12.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-11, hvori Shiga-toksineffektorpolypeptidet omfatter:

en Shiga-toksin A1-fragmentregion med en karboksyterminal og

et forstyrret furin-spaltingsmotiv ved A1-fragmentregionens karboksy-terminal.

[EP3303373]

7

- 5 **13.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 12, hvori det forstyrrede furinspaltingsmotivet omfatter én eller flere mutasjoner, i forhold til en villtype Shiga-toksin A-underenhet, der mutasjonen endrer minst én aminosyrerest i en nativt posisjonert region ved 248-251 til A-underenheten til Shiga-lignende toksin 1 (SEQ ID NO: 1) eller Shiga-toksin (SEQ ID NO: 2) eller ved 247-250 A-underenheten til Shiga-lignende toksin 2 (SEQ ID NO:3).
- 10 **14.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 12 eller krav 13, hvori det forstyrrede furinspaltingsmotivet omfatter en aminosyrerestsubstitusjon i furinspaltingsmotivet i forhold til en villtype Shiga-toksin A-underenhet; eventuelt hvori substitusjonen av aminosyreresten i furinspaltingsmotivet er av en argininrest med en ikke-positivt ladet aminosyrerest valgt fra gruppen bestående av:
- 15 alanin, glysin, prolin, serin, threonin, aspartat, asparagin, glutamate, glutamin, cystein, isoleukin, leukin, metionin, valin, fenylalanin, tryptofan og tyrosin.
- 20 **15.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-9, som omfatter eller består av polypeptidet vist i en hvilken som helst av SEQ ID NO: 6-27, 29-32, 340-354 og 370-438.
- 25 **16.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 15, som omfatter eller består av polypeptidet vist i SEQ ID NO: 12.
- 17.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 15, som omfatter eller består av polypeptidet vist i en hvilken som helst av SEQ ID NO: 6-10, 13-27, 29-32, 340-354 og 370-438.
- 30 **18.** Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 17, som omfatter eller består av polypeptidet vist i SEQ ID NO: 13.

[EP3303373]

19. Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge krav 17, som omfatter eller består av polypeptidet vist i SEQ ID NO: 31.

20. Cellemålrettet molekyl omfattende

- 5 i) en bindingsregion som er i stand til spesifikt å binde et ekstracellulært målbiomolekyl som er fysisk koblet til celleoverflaten til en celle, og
ii) Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19.

21. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 20, hvori bindingsregionen omfatter
10 en bindingsregion av immunoglobulintypen;
eventuelt hvori bindingsregionen av immunoglobulintypen omfatter et polypeptid valgt fra gruppen bestående av:

enkeltdomeneantistofffragment, enkeltkjedet variabelt fragment, antistoffvariabelt
fragment, komplementær-bestemmende region 3-fragment, begrenset FR3-
15 CDR3-FR4-polypeptid, Fd-fragment, antigenbindende fragment, Armadillo-
repetisjonspolypeptid, fibronektin-avledet 10· fibronektin type II-domene,
tenaskin type III-domene, ankyrinrepetisjonsmotivdomene, lavtetthets-
lipoprotein-reseptor-avledet A-domene, lipokalin, Kunitz-domene, protein-A-
avledet Z-domene, gamma-B-krystallavledet domene, ubiquitin-avledet domene,
20 Sac7d-avledet polypeptid, Fyn-avledet SH2-domene, miniprotein, C-type-lektin-
lignende domenestillas, konstruert antistoffmimetikum og eventuelle
genmanipulerte motstykker til hvilke som helst av de foregående som beholder
bindingsfunksjonalitet.

22. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 20, hvori bindingsregionen omfatter
25 et autonomt V_H-domene, antistoffdomene i tungkjeden avledet fra et kamelid V_HH-
fragment eller V_H-domenefragment, antistoffdomene i tungkjeden avledet fra
bruskholdig fisk, immunoglobulin ny antigenreseptor (IgNAR), V_{NAR}-fragment,
multimeriserings-scFv-fragment (diastoff, triastoff, tetrastoff), bivalent ministoff,
30 bispesifikt tandem-scFv, bispesifikt tandem V_HH eller bispesifikt ministoff.

23. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-22,
som omfatter en molekyllær enhet assosiert med Shiga-

[EP3303373]

5 toksineffektorpolypeptidets karboksyterminal; eventuelt hvori den molekulære enheten omfatter minst én aminosyre som forbinder Shiga-toksineffektorpolypeptidet med den molekulære enheten, slik som hvori den molekulære enheten og Shiga-toksineffektorpolypeptidet er fusjonert og danner et sammenhengende polypeptid

10 **24.** Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 23, hvori den molekulære enheten omfatter eller består av bindingsregionen; eller hvori den molekulære enheten er cytotoxisk.

25. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 24, hvori Shiga-toksineffektorpolypeptidet ikke er cytotoxisk, og den molekulære enheten er cytotoxisk.

15 **26.** Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-25, hvorved, ved administrering av det cellemålrettede molekylet til en celle som er fysisk koblet til et ekstracellulært målbiomolekyl i bindingsregionen, det cellemålrettede molekylet er i stand til å forårsake cellens død.

20 **27.** Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 26, hvori cellen eller den første populasjonen av celler er fysisk koblet til det ekstracellulære målbiomolekylet ved hjelp av kovalente og/eller ikke-kovalente intramolekulære interaksjoner som kobler det ekstracellulære målbiomolekylet eller en del derav til utsiden av en celle; eller hvori det ekstracellulære målbiomolekylet er et helt membranprotein
25 eller et perifert membranprotein uttrykt av cellen eller den første populasjonen av celler.

28. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 26 eller krav 27, hvori det cellemålrettede molekylet er i stand til å utvise en cytotoxisk effekt som er minst
30 3 ganger større i en første populasjon av celler hvis medlemmer er fysisk koblet til ekstracellulære målbiomolekyler til bindingsregionen sammenlignet med en andre populasjon av celler hvis medlemmer ikke er fysisk koblet til et ekstracellulært målbiomolekyl til bindingsregionen.

[EP3303373]

10

29. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-28, hvori bindingsregionen er i stand til å binde til et ekstracellulært målbiomolekyl valgt fra gruppen bestående av:

5 CD20, CD22, CD40, CD74, CD79, CD25, CD30, HER2/neu/ErbB2, EGFR, EpCAM, EphB2, prostata-spesifikt membranantigen, Cripto, CDCP1, endoglin, fibroblastaktiveringsprotein, Lewis-Y, CD19, CD21, CS1/ SLAMF7, CD33, CD52, CD133, gpA33, mucin, TAG-72, tyrosin-protein-kinasetransmembranreseptor, karbonisk anhydrase IX, folatbindende protein, gangliosid GD2, gangliosid GD3, 10 gangliosid GM2, gangliosid Lewis-Y2, VEGFR, Alfa V beta3, Alfa5beta1, ErbB1/EGFR, Erb3, c-MET, IGF1R, EphA3, TRAIL-R1, TRAIL-R2, RANK, tenaskin, CD64, mesotelin, BRCA1, tyrosinase, TRP-1, TRP-2, MAGE-1, MAGE-3, GAGE-1/2, BAGE, RAGE, NY-ESO-1, CDK-4, beta-latenin, MUM-1, kaspase-8, KIAA0205, HPVE6, SART-1, PRAME, karsinoembryonisk antigen, prostataspesifikt antigen, 15 prostatastamcelleantigen, human aspartyl (asparaginy) beta-hydroksylase, EphA2, HER3/ErbB-3, MUC1, MART-1/MelanA, gp100, tyrosinaseassosiert antigen, HPV-E7, Epstein-Barr-virus-antigen, Bcr-Ab1, alfa-fetoproteinantigen, 17-A1, blæretumorantigen, CD38, CD15, CD23, CD45, CD53, CD88, CD129, CD183, CD191, CD193, CD244, CD294, CD305, C3AR, IL-1R, galektin-9, mrp-14, NKG2D, 20 PD-L1, Siglec-8, Siglec-10, CD49d, CD13, CD44, CD54, CD63, CD69, CD123, TLR4, FcεRIα, IgE, CD107a, CD203c, CD14, CD68, CD80, CD86, CD105, CD115, F4/80, ILT-3, galektin-3, CD11a-c, GITRL, MHC klasse I-molekyl, MHC klasse II-molekyl, CD284, CD107-Mac3, CD195, HLA-DR, CD16/32, CD282, CD11c og eventuelle immunogene fragmenter av hvilke som helst av de foregående.

25

30. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-29, som omfatter linkerpeptidet vist i SEQ ID NO: 540-543, 544-550 eller 553-559.

30

31. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-30, hvori bindingsregionen omfatter en polypeptidsekvens valgt fra hvilke som helst av SEQ ID NO: 83-339.

[EP3303373]

32. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 31, hvori bindingsregionen omfatter:

- 5 a) et variabelt domene i tungkjeden (VH) omfattende: (i) en HCDR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 108, SEQ ID NO: 114, SEQ ID NO: 120 eller SEQ ID NO: 124; (ii) en HCDR2
omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 115 eller SEQ ID NO: 125; og (iii) en HCDR3 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 116, SEQ ID NO: 121 eller SEQ ID NO: 126; og
10 b) et variabelt domene i lettkjeden (VL), omfattende: (i) en LCDR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 117 eller SEQ ID NO: 127; (ii) en LCDR2 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 122 eller SEQ ID NO: 128; og (iii) en LCDR3
15 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist SEQ ID NO: 107, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 123 eller SEQ ID NO: 129.

33. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 31, hvori bindingsregionen omfatter:

- 20 a) et variabelt domene i tungkjeden (VH) omfattende: (i) en HCDR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 283, SEQ ID NO: 289, SEQ ID NO: 295 eller SEQ ID NO: 301; (ii) en HCDR2 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 284, SEQ ID NO: 290, SEQ ID NO: 296 eller SEQ ID NO: 302; og (iii) en HCDR3 omfattende eller
25 bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 285, SEQ ID NO: 291, SEQ ID NO: 297 eller SEQ ID NO: 303; og
b) et variabelt domene i lettkjeden (VL) omfattende (i) en LCDR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 286, SEQ ID NO: 292 eller SEQ ID NO: 298; (ii) en LCDR2 omfattende eller bestående av
30 aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 287, SEQ ID NO: 293 eller SEQ ID NO: 299; og (iii) en LCDR3 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 288, SEQ ID NO: 294 eller SEQ ID NO: 300;
eller

[EP3303373]

12

5 a) et variabelt domene i tungkjeden (V_H) omfattende: (i) en HABR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 261, SEQ ID NO: 268 eller SEQ ID NO: 274; (ii) en HABR2 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 262, SEQ ID NO: 269 eller SEQ ID NO: 275; og (iii) en HABR3 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 263, SEQ ID NO: 267, SEQ ID NO: 270 eller SEQ ID NO: 276; og

10 b) et variabelt domene i lettkjeden (V_L), omfattende: (i) en LABR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 264, SEQ ID NO: 271 eller SEQ ID NO: 277; (ii) en LABR2 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 265, SEQ ID NO: 272 eller SEQ ID NO: 278; og (iii) en LABR3 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 266, SEQ ID NO: 273 eller SEQ ID NO: 279; eller

15 a) et variabelt domene i tungkjeden (V_HH) omfattende: (i) en HABR1 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 280; (ii) en HABR2 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 281; og (iii) en HABR3 omfattende eller bestående av aminosyresekvensen som vist i SEQ ID NO: 282.

20

34. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 31, hvori bindingsregionen omfatter:

25 a) et variabelt domene i tungkjeden (V_H) omfattende: (i) en HCDR1 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 225, SEQ ID NO: 231 eller SEQ ID NO: 237; (ii) en HCDR2 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 226, SEQ ID NO: 232 eller SEQ ID NO: 238; og (iii) en HCDR3 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 227, SEQ ID NO: 233 eller SEQ ID NO: 239; og

30 b) et variabelt domene i lettkjeden (V_L) omfattende: (i) en LCDR1 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 228, SEQ ID NO: 234 eller SEQ ID NO: 240; (ii) en LCDR2 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 229, SEQ ID NO: 235 eller

[EP3303373]

13

SEQ ID NO: 241; og (iii) en LCDR3 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 230, SEQ ID NO: 236 eller SEQ ID NO: 242;

eller

5 a) et variabelt domene i tungkjeden (VH) omfattende: (i) en HABR1 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 189, SEQ ID NO: 195, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 207, SEQ ID NO: 213 eller SEQ ID NO: 219; (ii) en HABR2 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 190, SEQ ID NO: 196, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 208, 10 SEQ ID NO: 214 eller SEQ ID NO: 220; og (iii) en HABR3 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 191, SEQ ID NO: 197, SEQ ID NO: 203, SEQ ID NO: 209, SEQ ID NO: 215 eller SEQ ID NO: 221; og

15 b) et variabelt domene i lettkjeden (VL) domene omfattende (i) en LABR1 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 192, SEQ ID NO: 198, SEQ ID NO: 204, SEQ ID NO: 210, SEQ ID NO: 216 eller SEQ ID NO: 222; (ii) en LABR2 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 193, SEQ ID NO: 199, SEQ ID NO: 205, SEQ ID NO: 211, SEQ ID NO: 217 eller SEQ ID NO: 223; og (iii) en LABR3 20 omfattende eller bestående av en av aminosyresekvensene som vist i SEQ ID NO: 194, SEQ ID NO: 200, SEQ ID NO: 206, SEQ ID NO: 212, SEQ ID NO: 218 eller SEQ ID NO: 224.

25 **35.** Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 31, hvori bindingsregionen omfatter eller består av polypeptidet representert ved hvilke som helst av følgende:

- (i) aminosyrer 1-245 ifølge hvilke som helst av SEQ ID NO: 33, 64 og 65;
- (ii) aminosyrer 269-513 ifølge hvilke som helst av SEQ ID NO: 40 og 80; eller
- (iii) aminosyrer 269-520 eller 269-521 ifølge hvilke som helst av SEQ ID NO: 36, 66 og 67.

30

36. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-35, som omfatter Shiga-toksineffektorpolypeptidet omfattende eller bestående av SEQ ID NO: 13.

[EP3303373]

14

37. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-35, som omfatter eller består av polypeptidet vist i en hvilken som helst av SEQ ID NO: 43-62, 64-82, 439-500 og 502-513.

5

38. Det cellemålrettede molekylet ifølge krav 37, som omfatter eller består av polypeptidet vist i en hvilken som helst av SEQ ID NO: 44, 82 eller 453.

39. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-38 i form av en homo-multimer eller en hetero-multimer.

10

40. Det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-39 i form av et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat.

41. Farmasøytisk sammensetning omfattende:

Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19 eller det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40 og minst én farmasøytisk akseptabel eksipient eller bærer.

15

42. Diagnostisk sammensetning omfattende:

det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40 og et deteksjonsfremmende middel.

20

43. Polynukleotid som er i stand til å kode for Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19, eller det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40 eller et komplement derav.

25

44. Shiga-toksineffektorpolypeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19, et cellemålrettet molekyl ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge krav 41, for anvendelse i behandling av en sykdom, lidelse eller tilstand hos en pasient med behov for dette.

30

[EP3303373]

15

45. Shiga-toksineffektorpolypeptid ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19, et cellemålrettet molekyl ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40 eller en farmasøytisk sammensetning ifølge krav 41, for anvendelse i behandling eller forebygging av kreft, tumor, immunlidelse og mikrobiell infeksjon; eventuelt hvori kreften er valgt fra gruppen bestående av:

benkreft, brystkreft, kreft i det sentrale/perifere nervesystemet, gastrointestinal kreft, kimcellekreft, glandulær kreft, hode-nakke-kreft, hematologisk kreft, kreft i nyrer/urinveier, leverkreft, lunge-/pleurakreft, prostatakreft, sarkom, hudkreft, livmorskreft;

eller hvori immunlidelsen er valgt fra gruppen bestående av: amyloidose, ankyloserende spondylitt, astma, Crohns sykdom, diabetes, graftavstøting, graft-versus-vert-sykdom, Hashimotos thyroiditt, hemolytisk uremisk syndrom, HIV-relatert sykdom, lupus erythematosus, multippel sklerose, polyarteritt, psoriasis, psoriatisk artritt, revmatoid artritt, sklerodermi, septisk sjokk, Sjøgrens syndrom, ulcerøs kolitt og vaskulitt.

46. Anvendelse av Shiga-toksineffektorpolypeptidet ifølge et hvilket som helst av kravene 1-19, det cellemålrettede molekylet ifølge et hvilket som helst av kravene 20-40, den farmasøytiske sammensetningen ifølge krav 41 eller den diagnostiske sammensetning ifølge krav 42 i *in vitro*-diagnostikk, -prognostikk eller -karakteristikk av en sykdom, lidelse eller tilstand.