(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년07월14일
(11) 등록번호 10-2834084
(24) 등록일자 2025년07월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) *A61K 35/17* (2025.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/725* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C12N 5/0783* (2010.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/70596 (2013.01)
A61K 35/17 (2025.01)
(21) 출원번호 10-2021-7004572
(22) 출원일자(국제) 2019년07월17일
심사청구일자 2022년07월11일
(85) 번역문제출일자 2021년02월16일
(65) 공개번호 10-2021-0021593
(43) 공개일자 2021년02월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/042297
(87) 국제공개번호 WO 2020/018727
국제공개일자 2020년01월23일
(30) 우선권주장
62/699,173 2018년07월17일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020160122188 A*
WO2016166139 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
트리움비라 이뮤놀로직스 유에스에이, 인크.
미국 78733 텍사스주 오스틴 9433 비 케이브 로드 빌딩 아이 스위트 240
맥마스터 유니버시티
캐나다 온타리오 엘8피 0에이1 해밀턴 롱우드 로드 사우스 175
(72) 발명자
브람슨 조나단 로른
캐나다 온타리오 엘8피 0에이1 해밀턴 롱우드 로드 사우쓰 175 스위트 305
헬센 크리스토퍼 더블유
캐나다 온타리오 엘8피 0에이1 해밀턴 롱우드 로드 사우쓰 175 스위트 305
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

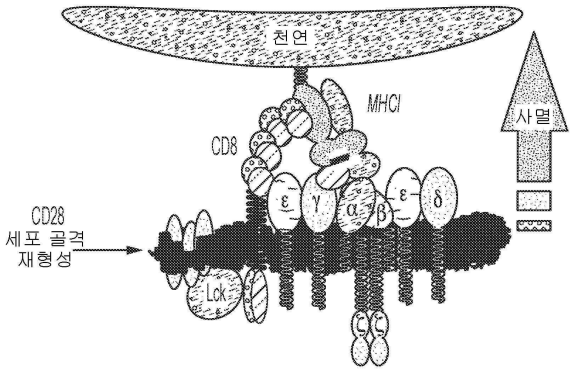
전체 청구항 수 : 총 10 항 심사관 : 정지혜

(54) 발명의 명칭 **다양한 구조 최적화를 갖는 T 세포-항원 커플러**

(57) 요 약

(i) 표적 특이적 리간드, (ii) TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드, 및 (iii) T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 포함하는 삼기능성(trifunctional) 분자가 제공된다. 최적화된 표면 발현, 형질 도입 효율, 및 이펙터 기능성을 나타내는 변이체를 포함하는 분자의 변이체가 제공된다. 변이는 예를 들어 CD3 엡실론에 결합하는 상이한 리간드(예를 들어, OKT3, L2K, F6A, UCHT1 및 인간화 UCHT1), 상이한 신호 전달 도메인, 및 도메인 간의 상이한 링커를 포함한다.

대 표 도 - 도1a



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 16/2809 (2013.01)
C12N 5/0636 (2025.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C07K 2319/00 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)

(72) 발명자
해밀 조안 앨리시아
캐나다 온타리오 엘8피 0에이1 해밀턴 롱우드 로드 사우쓰 175 스위트 305
엠와와시 케네쓰 안토니
캐나다 온타리오 엘8피 0에이1 해밀턴 롱우드 로드 사우쓰 175 스위트 305

(30) 우선권주장
62/703,037 2018년07월25일 미국(US)
62/773,120 2018년11월29일 미국(US)
62/826,853 2019년03월29일 미국(US)
62/828,879 2019년04월03일 미국(US)
62/839,235 2019년04월26일 미국(US)
16/442,274 2019년06월14일 미국(US)
62/874,426 2019년07월15일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 상피 성장 인자 수용체 2(HER2) T 세포 항원 커플러(HER2-TAC) 폴리펩티드로서, 서열 번호 66, 서열 번호 68, 또는 서열 번호 76과 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 HER2-TAC 폴리펩티드.

청구항 2

제1항의 HER2-TAC 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 3

제2항에 있어서, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 또는 서열 번호 75와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 4

제2항에 있어서, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 또는 서열 번호 75와 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 5

제2항에 있어서, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 또는 서열 번호 75와 100% 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 6

(a) 제2항의 폴리뉴클레오티드 분자; 및

(b) 포유동물 세포에서 기능적인 프로모터

를 포함하는 벡터 구축물.

청구항 7

(a) 제1항의 HER2-TAC 폴리펩티드; (b) 제2항 내지 제5항 중 어느 하나의 항의 폴리뉴클레오티드 분자; 또는 (c) 제6항의 벡터 구축물을 포함하는 생체 외 T 세포.

청구항 8

제7항의 생체 외 T 세포, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하고 암 치료에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 9

HER2를 발현하는 암의 치료를 필요로 하는 개체에서 HER2를 발현하는 암의 치료에 사용하기 위한, 제7항의 생체 외 T 세포를 포함하는 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서, 암은 유방암, 방광암, 췌장암, 난소암, 또는 위암인 조성물.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

발명의 설명

발명의 내용

[0001] **상호 참조**

[0002] 본 출원은 2018년 7월 17일에 출원된 미국 가출원 제62/699,173호, 2018년 7월 25일에 출원된 미국 가출원 제62/703,037호, 2018년 11월 29일에 출원된 미국 가출원 제62/773,120호, 2019년 3월 29일에 출원된 미국 가출원 제62/826,853호, 2019년 4월 3일에 출원된 미국 가출원 제62/828,879호, 2019년 4월 26일에 출원된 미국 가출원 제62/839,235호, 2019년 6월 14일에 출원된 미국 정규 출원 제16/442,274호, 및 2019년 7월 15일에 출원된 미국 가출원 제62/874,426호의 우선권을 주장하며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0003] **서열 목록**

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자 제출된 서열 목록을 포함하며 이로써 그 전체가 참고로 포함된다. 상기 ASCII 사본은 2019년 7월 17일에 생성하였으며, 55247704601_SL.txt로 명명하였으며 크기는 131,072 바이트이다.

[0005] **요약**

[0006] 특정 실시 양태에서, CD19 삼기능성(trifunctional) T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, CD19 삼기능성 T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 핵산 서열은 (a) CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19 삼기능성 T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 핵산 서열은 (b) CD3에 결합하는 UCHT1 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19 삼기능성 T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 핵산 서열은 (c) 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인을 포함하는 TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1, 제2 및/또는 제3 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 성분은 임의의 적합한 방식으로, 예컨대 임의의 적합한 순서로 그리/또는 임의의 적합한 링커(들)를 포함하여 연결된다. 일부 실시 양태에서, (a)에 의해 코딩된 성분, (b)에 의해 코딩된 성분, 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 서로 직접 융합되거나, 적어도 하나의 링커에 의해 연결된다. 일부 실시 양태에서, CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드는 단쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시 양태에서, CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드는 서열 번호 36과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 단쇄 항체이다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 Y182T 돌연변이(서열 번호 72)를 포함한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 UCHT1의 인간화 변이체(huUCHT1) 리간드(서열 번호 44)이다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 Y177T 돌연변이를 포함하는 UCHT1의 인간화 변이체(huUCHT1(Y177T))(서열 번호 46)이다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 서열 번호 14, 서열 번호 72, 서열 번호 44, 또는 서열 번호 46과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 시토졸 도메인은 CD4 시토졸 도메인이고 막 횡단 도메인은 CD4 막 횡단 도메인이다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 18과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩한다. 일부 실시 양태에서, (a)에 의해 코딩된 성분 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 (b)에 의해 코딩된 성분에 융합된다. 일부 실시 양태에서, (b)에 의해 코딩된 성분 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 (a)에 의해 코딩된 성분에 융합된다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 (a)에 의해 코딩된 성분을 (b)에 의해 코딩된 성분에 연결한다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 G_4S 가요성 링커(서열 번호 73), 큰 단백질 도메인, 긴 나선형 구조, 또는 짧은 나선형 구조이다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 서열 번호 12(G_4S 가요성 링커(서열 번호 73으로 개시된 "G_4S")), 서열 번호 32(큰 단백질 도메인), 서열 번호 30(긴 나선형 구조), 또는 서열 번호 28(짧은 나선형 구조)과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD3은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포 상의 TCR 복합체의 것이다. 일부 실시 양태에서, CD3의 결합은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포의 활성화를 유도한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 활성화 도메인을 코

딩하지 않는다.

[0007] 특정 실시 양태에서, (a) 본원에 개시된 핵산 서열(예를 들어, CD19-TAC를 코딩하는 핵산 서열); 및 (b) 포유동물 세포에서 기능적인 프로모터를 포함하는 벡터 구축물이 본원에 개시된다.

[0008] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산 서열(예를 들어, CD19-TAC를 코딩하는 핵산 서열)을 포함하는 T 세포가 본원에 개시된다.

[0009] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 T 세포, 및 약학적으로 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물이 본원에 개시된다.

[0010] 특정 실시 양태에서, CD19를 발현하는 암 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19를 발현하는 암을 치료하는 방법으로서, 본원에 개시된 약학 조성물(예를 들어, CD19 삼기능성 T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 본원에 기재된 임의의 핵산 서열 또는 서열들과 같은 본원에 기재된 임의의 핵산 서열을 포함하는 T 세포를 포함하는 약학 조성물)을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 암은 B 세포 악성 종양이다. 일부 실시 양태에서, 암은 B 세포 림프종, 급성 림프모구성 백혈병(ALL: acute lymphoblastic leukemia), 만성 림프구성 백혈병(CLL: chronic lymphocytic leukemia), 또는 비호지킨 림프종이다. 일부 실시 양태에서, 약학 조성물은 경동맥, 피하, 피부 내, 종양 내, 결절 내, 척수 내(intrameduliary), 근육 내, 정맥 내 또는 복강 내로 투여된다.

[0011] 특정 실시 양태에서, (a) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (b) TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; 및 (c) T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드를 포함하는 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC)를 코딩하는 핵산 서열로서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 OKT3, F6A 또는 L2K로부터 선택되는 것인 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, (a)에 의해 코딩된 성분, (b)에 의해 코딩된 성분 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 직접 융합되거나, 적어도 하나의 링커에 의해 연결된다. 일부 실시 양태에서, (a)에 의해 코딩된 성분 및 (b)에 의해 코딩된 성분은 직접 융합되고 링커에 의해 (c)에 의해 코딩된 성분에 연결된다. 일부 실시 양태에서, (b)에 의해 코딩된 성분 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 직접 융합되고 링커에 의해 (a)에 의해 코딩된 성분에 연결된다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 G_4S 가요성 링커(서열 번호 73), 큰 단백질 도메인, 긴 나선형 구조, 또는 짧은 나선형 구조이다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 서열 번호 12(G_4S 가요성 링커(서열 번호 73으로 개시된 "G_4S")), 서열 번호 32(큰 단백질 도메인), 서열 번호 30(긴 나선형 구조), 또는 서열 번호 28(짧은 나선형 구조)과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 OKT3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 F6A이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 L2K이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 종양 항원에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 설계된 안키린 반복(DARPin: designed ankyrin repeat) 폴리펩티드, 또는 단쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19 항원, HER2 항원, 또는 BCMA 항원에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2 항원에 선택적으로 결합하고 트라스투주맙(Trastuzumab), 퍼투주맙(Pertuzumab), 라파티닙(Lapatinib), 네라티닙(Neratinib), 아도-트라스투주맙 엠탄신(Ado-trastuzmab Emtansine), 간코타맙(Gancotamab), 마르게툭시맙(Margetuximab), 티미구투주맙(Timigutuzumab), 및 에르투막소맙(Ertumaxomab)으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA 항원에 선택적으로 결합하고 벨란타맙 마포도틴(Belantamab mafodotin), 및 GSK2857916으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36, 서열 번호 8, 또는 서열 번호 34와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아

미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 시토졸 도메인은 CD4 시토졸 도메인이고 막 횡단 도메인은 CD4 막 횡단 도메인이거나, 시토졸 도메인은 CD8 시토졸 도메인이고 막 횡단 도메인은 CD8 막 횡단 도메인이다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 리더 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 서열 번호 48, 또는 서열 번호 50과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD3은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포 상의 TCR 복합체의 것이다. 일부 실시 양태에서, CD3의 결합은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포의 활성화를 유도한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 서열 번호 63, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 서열 번호 75, 서열 번호 55, 서열 번호 57, 서열 번호 59, 또는 서열 번호 61과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 서열 번호 64, 서열 번호 66, 서열 번호 68, 서열 번호 76, 서열 번호 56, 서열 번호 58, 서열 번호 60, 또는 서열 번호 62와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 활성화 도메인을 코딩하지 않는다.

[0012] 특정 실시 양태에서, (a) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (b) TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; 및 (c) T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드를 포함하는 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC)를 코딩하는 핵산 서열로서, 핵산 서열은 리더 서열을 추가로 포함하며, (a)에 의해 코딩된 성분, (b)에 의해 코딩된 성분, 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 서로 직접 융합되거나, 적어도 하나의 링커에 의해 연결되는 것인 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 종양 항원에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 설계된 안키린 반복(DARPin) 폴리펩티드, 또는 단쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19 항원, HER2 항원, 또는 BCMA 항원에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2 항원에 선택적으로 결합하고 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 네라티닙, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 간코타맙, 마르게툭시맙, 티미구투주맙, 및 에르투막소맙으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA 항원에 선택적으로 결합하고 벨란타맙 마포도틴, 및 GSK2857916으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36, 서열 번호 8, 서열 번호 34, 서열 번호 52, 또는 서열 번호 54와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1, UCHT1(Y182T), huUCHT1, huUCHT1(Y177T), OKT3, F6A, 또는 L2K로부터 선택된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 서열 번호 14, 서열 번호 72, 서열 번호 44, 서열 번호 46, 서열 번호 22, 서열 번호 24, 또는 서열 번호 26과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3이다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 시토졸 도메인은 CD4 시토졸 도메인이고 막 횡단 도메인은 CD4 막 횡단 도메인이거나, 시토졸 도메인은 CD8 시토졸 도메인이고 막 횡단 도메인은 CD8 막 횡단 도메인이다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 서열 번호 48, 또는 서열 번호 50과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, (a)에 의해 코딩된 성분 및 (b)에 의해 코딩된 성분은 직접 융합되고 링커에 의해 (c)에 의해 코딩된 성분에 연결된다. 일부 실시 양태에서, (b)에 의해 코딩된 성분 및 (c)에 의해 코딩된 성분은 직접 융합되고 링커에 의해 (a)에 의해 코딩된 성분에 연결된다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 G_4S 가요성 링커(서열 번호 73), 큰 단백질 도메인, 긴 나선형 구조, 또는 짧은 나선형 구조이다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 서열 번호 12(G_4S 가요성 링커(서열 번호 73으로 개시된 "G_4S")), 서열 번호 32(큰 단백질 도메인), 서열 번호 30(긴 나선형 구조), 또는 서열 번호 28(짧은 나선형 구조)과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시 양태에서, CD3은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포 상의 TCR 복합체의 것이다. 일부 실시 양태에서, CD3의 결합은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포의 활성화를 유도한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 서열 번호 63, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 서열 번호 75, 서열 번호 55, 서열 번호 57, 서열 번호 59, 또는 서열 번호 61과 적어도 80%, 적어도

85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 서열 번호 64, 서열 번호 66, 서열 번호 68, 서열 번호 76, 서열 번호 56, 서열 번호 58, 서열 번호 60, 또는 서열 번호 62와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 활성화 도메인을 코딩하지 않는다.

[0013] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산 서열에 의해 코딩된 폴리펩티드가 본원에 개시된다.

[0014] 특정 실시 양태에서, (a) 본원에 개시된 핵산 서열; 및 (b) 포유동물 세포에서 기능적인 프로모터를 포함하는 벡터 구축물이 본원에 개시된다.

[0015] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산 서열을 포함하는 T 세포가 본원에 개시된다.

[0016] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 T 세포, 및 약학적으로 가능한 부형제를 포함하는 약학 조성물이 본원에 개시된다.

[0017] 특정 실시 양태에서, 암 치료를 필요로 하는 개체에서 암을 치료하는 방법으로서, 본원에 개시된 약학 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 개시된다. 일부 실시 양태에서, 대상체는 포유동물이다. 일부 실시 양태에서, 암은 고형암 또는 액체 암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 폐암, 유방암, 다발성 골수종, 교모세포종, 위장암(gastric cancer), 난소암, 위암(stomach cancer), 결장 직장암, 요로 상피암, 자궁내막암 또는 결장암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 CD19 발현 암 세포를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 B 세포 악성 종양이다. 일부 실시 양태에서, 암은 B 세포 림프종, 급성 림프모구성 백혈병(ALL), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 또는 비호지킨 림프종이다. 일부 실시 양태에서, 암은 HER-2 발현 암세포를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 유방암, 방광암, 췌장암, 난소암, 또는 위암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 BCMA 발현 암세포를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 백혈병, 림프종, 또는 다발성 골수종이다. 일부 실시 양태에서, 약학 조성물은 경동맥, 피하, 피부 내, 종양 내, 결절 내, 척수 내, 근육 내, 정맥 내 또는 복강 내로 개체에게 투여된다. 일부 실시 양태에서, 약학 조성물은 단위 투여 형태이다. 일부 실시 양태에서, 약학 조성물은 약 $0.5 - 2 \times 10^9$개 T 세포를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 약학 조성물은 매일, 매주, 격주, 매월, 격월 또는 매년 투여된다.

[0018] 특정 실시 양태에서, (a) CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (b) CD3에 결합하는 Y177T 돌연변이를 포함하는 UCHT1의 인간화 변이체(huUCHT1)(huUCHT1(Y177T)) 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; 및 (c) CD4 시토졸 도메인 및 CD4 막 횡단 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드를 포함하는 CD19 삼기능성 T 세포-항원 커플러(CD19-TAC)를 코딩하는 핵산 서열로서, (a)에 의해 코딩된 리간드, (b)에 의해 코딩된 리간드, 및 (c)에 의해 코딩된 폴리펩티드는 서로 직접 융합되거나, 적어도 하나의 링커에 의해 연결되는 것인 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인, 활성화 도메인, 또는 보조 자극 도메인과 활성화 도메인 둘 다를 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드는 단쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시 양태에서, CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드는 서열 번호 36과 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19 항원에 선택적으로 결합하는 리간드는 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 단쇄 항체이다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 서열 번호 46과 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 18과 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩한다.

[0019] 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 코딩한다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 G_4S 가요성 링커, 큰 단백질 도메인, 긴 나선형 구조, 또는 짧은 나선형 구조이다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 서열 번호 12, 서열 번호 32, 서열 번호 30, 또는 서열 번호 28과 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 적어도 하나의 링커는 서열 번호 12, 서열 번호 32, 서열 번호 30, 또는 서열 번호 28의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD3은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포 상에서 발현된다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 80%, 적어도 90%, 또

는 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC은 서열 번호 63 또는 서열 번호 64의 서열을 포함한다. 특정 실시 양태에서, (a) 본원에 개시된 핵산 서열; 및 (b) 포유동물 세포에서 기능적인 프로모터를 포함하는 벡터 구축물이 본원에 개시된다. 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 벡터, 및 부형제를 포함하는 조성물이 본원에 개시된다. 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산 서열에 의해 코딩되는 폴리펩티드가 본원에 개시된다.

[0020] 특정 실시 양태에서, 서열 번호 65, 서열 번호 67, 또는 서열 번호 75와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 HER2 삼기능성 T 세포-항원 커플러(HER2-TAC)를 코딩하는 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66, 서열 번호 68, 또는 서열 번호 76과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 활성화 도메인을 코딩하지 않는다.

[0021] 특정 실시 양태에서, 서열 번호 55, 서열 번호 57, 서열 번호 59, 또는 서열 번호 61과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함하는 BCMA 삼기능성 T 세포-항원 커플러(BCMA-TAC)를 코딩하는 핵산 서열이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 서열 번호 58, 서열 번호 60, 또는 서열 번호 62와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, 핵산 서열은 활성화 도메인을 코딩하지 않는다.

도면의 간단한 설명

[0022] 본 발명의 신규 특징은 첨부된 청구 범위에서 구체적으로 설명된다. 본 발명의 원리가 이용되는 예시적인 실시 양태를 설명하는 다음의 상세한 설명 및 다음의 첨부 도면을 참조하여 본 발명의 특징 및 이점이 더 잘 이해될 것이다:

[도 1a]는 천연 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 1b]는 CAR 기반 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 1c]는 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC) 기반 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 1d]는 천연 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 1e]는 CAR 기반 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 1f]는 Tri-TAC 기반 T 세포 활성화의 개략도이다.

[도 2a]는 UCHT1 도메인이 막 횡단 도메인(TM)과 항원 결합 도메인 사이에서 중심이 되는 Tri-TAC 구성의 개략도이다.

[도 2b]는 UCHT1 도메인이 N-말단이고 항원 결합 도메인 및 막 횡단 도메인이 뒤따르는 Tri-TAC 구성의 개략도이다.

[도 2c]는 일반적인 항원 결합 도메인 및 UCHT1 도메인을 갖는 Tri-TAC 분자의 개략도이다.

[도 3a]는 일반적인 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC 분자의 개략도이다.

[도 3b]는 항-HER-2 DARPin 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC의 개략도이다.

[도 3c]는 항-CD19 scFv 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC의 개략도이다.

[도 3d]는 항-BCMA scFv 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC의 개략도이다.

[도 3e]는 항-HER-2 DARPin 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC 분자의 개략도이다.

[도 3f]는 항-BCMA scFv 항원 결합 도메인을 갖는 Tri-TAC 분자의 개략도이다.

[도 4a] 내지 [도 4d]는 DARPin을 사용한 HER-2에 대한 Tri-TAC 또는 CD28 기반 CAR로 조작된 T 세포를 예시한다. [도 4a]는 키메라 수용체를 발현하지 않는 T 세포와 비교한 Tri-TAC 및 CAR의 표면 발현을 예시한다. [도

4b]는 3개의 세포 집단의 성장을 예시한다. [도 4c] 내지 [도 4d]는 항원으로 자극한 후 다양한 T 세포 활성화 마커에 대해 양성인 조작된 세포의 백분율을 예시한다.

[도 5]는 CD19-TAC 단백질 구조의 모델을 예시한다.

[도 6a] 내지 [도 6j]는 다양한 항-HER-2 DARPin Tri-TAC 대조군의 수용체 표면 발현 및 활성화를 예시한다. T 세포는 표적화 요소가 없는 Tri-TAC 변이체(-DARPin), UCHT1이 없는 Tri-TAC 변이체(-UCHT1) 또는 전장의 Tri-TAC로 조작하였다. [도 6a], [도 6d], [도 6g]는 T 세포 형질 도입 및 Her2 결합 능력을 예시하고(왼쪽); [도 6b], [도 6e], [도 6h]는 탈과립(중간)을 예시하고, [도 6c], [도 6f], [도 6i]는 사이토카인 생산(우측)을 예시한다. [도 6j]는 전장의 항-HER-2 DARPin Tri-TAC만이 세포 독성 반응을 유발할 수 있음을 예시한다.

[도 7a] 내지 [도 7c]는 항-HER-2 DARPin Tri-TAC 또는 항-HER-2 DARPin CD28 기반 CAR로 조작된 T 세포의 항종양 활성, 독성, 및 사이토카인 생산을 예시한다. 확립된 OVCAR-3 종양을 보유하는 마우스에 항-HER-2 DARPin Tri-TAC 또는 항-HER-2 DARPin CAR로 조작된 T 세포를 처리하였다. [도 7a]는 T 세포 주입 일(제35일)에 대한 종양 성장의 변화를 예시한다. [도 7b]는 동일한 마우스에서 독성의 척도인 체중의 변화를 예시한다. [도 7c]는 T 세포 주입 후 제7일에 마우스 혈청 내 사이토카인 농도를 예시한다.

[도 8a] 내지 [도 8h]는 UCHT1 scFv-CD3 동원 도메인에 대한 다양한 대안으로 설계된 Tri-TAC를 예시한다. [도 8a]는 UCHT1 또는 OKT3 항-CD3 scFv와 대응된 항-HER-2 DARPin을 이용하는 TAC 수용체 구축물의 개략도를 제공한다. [도 8b]는 CD8+ NGFR+(왼쪽) 또는 CD4+ NGFR+ T 세포(오른쪽)의 HER-2 TAC 표면 발현을 예시한다. [도 8c], [도 8c1]은 항원 양성 SK-OV-3 종양 세포로 자극된 HER-2 특이적 TAC-T 세포에 의한 사이토카인 생산을 예시한다. [도 8d]는 HER-2 TAC 및 벡터 대조군(tNGFR만을 보유하는 벡터) T 세포에 의한 SK-OV-3 종양 세포의 사멸을 예시한다. 벡터 대조군 T 세포(원)를 UCHT1(정사각형) 또는 OKT3(삼각형)을 보유하는 HER-2 특이적 TAC-T 세포에 대해 비교한다. [도 8e]는 huUCHT1, F6A, 또는 L2K 항-CD3 scFv와 대응된 항-CD19 scFv를 사용하는 TAC 수용체 구축물의 개략도를 제공한다. [도 8f]는 CD8+ NGFR+(왼쪽) 또는 CD4+ NGFR+ T 세포(오른쪽)의 CD19-TAC 표면 발현을 예시한다. [도 8g], [도 8g1]은 항원 양성 Raji 종양 세포로 자극된 CD19 특이적 TAC-T 세포에 의한 사이토카인 생산을 예시한다. huUCHT1(사각형), F6A(삼각형) 또는 L2K(마름모)를 보유하는 TAC-T 세포로부터 사이토카인 생산 세포를 비교한다. [도 8h]는 CD19 TAC 및 벡터 대조군(tNGFR만을 보유하는 벡터) T 세포에 의한 NALM-6 종양 세포의 사멸을 예시한다. 벡터 대조군 T 세포(원)를 huUCHT1(정사각형), F6A(삼각형), 또는 L2K(마름모)를 보유하는 CD19 특이적 TAC-T 세포에 대해 비교한다.

[도 9a] 내지 [도 9h]는 TCR 표면 발현에 대한 다양한 항-CD3 scFv의 효과를 예시한다. [도 9a], [도 9e]는 대조군 벡터(tNGFR), UCHT1, 또는 OKT3 TAC 변이체로 조작된 T 세포의 TCR 표면 발현을 예시한다. [도 9b], [도 9f]는 OKT3-TAC로 조작된 T 세포가 UCHT1-TAC에 비해 TCR 표면 발현을 상당히 감소시켰음을 예시한다. [도 9c], [도 9g]는 대조군 벡터(tNGFR), huUCHT1, F6A 또는 L2K TAC 변이체로 조작된 T 세포의 TCR 표면 발현을 예시한다. [도 9d], [도 9h]는 L2K TAC로 조작된 T 세포가 huUCHT1-TAC에 비해 TCR 표면 발현을 상당히 감소시켰음을 예시한다.

[도 10a] 내지 [도 10b]는 연결기 도메인 변이체를 예시한다. 항원 결합 도메인을 TCR 동원 도메인과 연결하는 도메인을 연결기 도메인이라고 한다. [도 10a]는 상이한 연결기 도메인을 갖는 TAC 변이체의 개략도를 제공한다: (i) 가요성 연결기, (ii) 큰 도메인 연결기(세포 외 CD4 도메인에서 유래된 도메인 3 및 4로 구성됨), (iii) 긴 나선형 연결기, 및 (iv) 짧은 나선형 연결기. [도 10b]는 [도 10a]에 나타낸 도메인의 예시적인 아미노산 서열을 제공한다(보이는 순서대로 각각 서열 번호 69, 28, 30, 및 32)

[도 11a] 내지 [도 11e]는 상이한 연결기 변이체로 조작된 CD19 TAC의 예시적인 시험관 내 매개 변수를 예시한다. [도 11a]는 CD4 및 CD8 세포 모두에서 TAC 변이체 표면 발현을 예시한다. [도 11b]는 나선형 또는 큰 도메인 연결기를 포함하는 TAC에 대한 가요성 연결기를 포함하는 TAC의 표면 발현을 예시한다. [도 11c]는 가요성 연결기에 대한 대안적인 연결기를 포함하는 TAC의 총 형질 도입을 도시한다. [도 11d], [도 11e]는 항원 양성 Raji 세포에 대한 상대적인 세포 반응성을 예시한다.

[도 12a]는 상이한 연결기로 조작된 BCMA Tri-TAC 변이체의 시험관 내 세포 독성을 예시한다. [도 12b]는 짧은 나선형 연결기와 비교하여 가요성 연결기로 조작된 BCMA Tri-TAC 변이체의 생체 내 종양 제어를 예시한다.

[도 13a] 내지 [도 13c]는 CD8α Tri-TAC scFv 항 HER-2, 및 CD8α Tri-TAC DARPin 항-HER-2의 특성을 예시한다. [도 13a], [도 13c]는 표면 발현을 예시한다. [도 13b]는 사이토카인 생산을 예시한다.

[도 14a] 내지 [도 14d]는 CD8 Tri-TAC 변이체의 개략도를 제공한다. 예시적인 항원 결합 도메인으로서 항 HER-

2-DARPin을 사용하고 예시적인 동원 도메인으로서 UCHT1 CD3 동원 도메인을 사용한다. [도 14a]는 CD4 막 횡단 및 시토졸 도메인(왼쪽) 및 CD8α/CD8β 이종 이량체의 유사한 영역(오른쪽)을 포함하는 Tri-TAC를 예시한다. 공수용체 기능성을 위한 주요 영역(아르기닌 풍부 도메인 및 CXCP 모티프)이 강조 표시되어 있다. [도 14b]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이, 및 CD8α 시토졸 도메인을 포함하는 CD8α Tri-TAC의 개략도이다. [도 14c]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이, 및 CD8α 아르기닌 풍부 영역이 CD8β 아르기닌 풍부 영역으로 대체된 키메라 CD8α 시토졸 도메인을 포함하는 CD8α+Rβ Tri-TAC의 개략도이다. [도 14d]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이, 및 Lck 결합 모티프를 포함하는 CD8α CXCP 도메인이 CD8β 시토졸 도메인의 C-말단에 추가된 키메라 CD8β 시토졸 도메인을 포함하는 CD8β+Lck Tri-TAC의 개략도이다.

[도 15a] 내지 [도 15e]는 CD4 영역을 포함하는 프로토타입 Tri-TAC에 대한 CD8 Tri-TAC 변이체의 시험관 내 특성화를 예시한다. [도 15a] 내지 [도 15b]는 프로토타입 Tri-TAC에 대한 CD8-Tri TAC 변이체의 표면 발현을 예시한다. [도 15c]는 LOX IMVI(HER-2 음성) 또는 A549, SKOV3, SKBR3 또는 MBA MB 231(HER-2 양성)과 공동 배양된 CD8-Tri TAC 변이체의 시험관 내 세포 독성을 예시한다. [도 15d]는 CD8 Tri-TAC 변이체 또는 프로토타입 Tri-TAC로 조작된 T 세포의 세포 분열을 예시한다. [도 15e]는 CD8 Tri-TAC 변이체 또는 프로토타입 Tri-TAC를 포함하는 조작된 T 세포의 TCR 표면 발현을 예시한다.

[도 16]은 다양한 Tri-TAC를 예시한다.

[도 17]은 pCCL 렌티바이러스 벡터 내 TAC-CD19 삽입체를 예시한다. [도 17]은 TAC-CD19의 다양한 도메인(CD8a 리더, FMC63 scFv, Myc 태그, huUCHT1 Y177T 돌연변이체 및 절두된 CD4 고정 공수용체 도메인)을 예시한다.

[도 18]은 상이한 공여자로부터 생성된 TAC-CD19의 생체 내 효능을 예시한다.

[도 19a] 내지 [도 19c]는 종양 주에 대한 TAC-CD19 세포 독성의 시험관 내 예를 예시한다. [도 19a] NALM-6(급성 림프모구성 백혈병), [도 19b] Jeko-1(외투 세포 림프종) 및 [도 19c] Raji(버킷 림프종).

[도 19d]는 NRG 마우스에서 3개의 상이한 생체 내 종양 모델의 개략도를 예시한다.

[도 19e] 내지 [도 19g]는 NALM-6(급성 림프모구성 백혈병)(도 19e), Jeko-1(외투 세포 림프종)(도 19f), 및 Raji(버킷 림프종)(도 19g)에서 CD19-TAC의 생체 내 효능을 예시한다.

[도 20a] NALM-6 종양을 가진 TAC-CD19 처리된 마우스의 실험 설정을 예시한다. 성공적인 치료 후 마우스에 NALM-6(CD19 양성) 또는 KMS11(CD19 음성) 종양 세포를 재투여(rechallenge)한다.

[도 20b]는 TAC-CD19로 처리된 마우스의 생체 내 효능을 예시한다.

[도 21a]는 용량 용법을 평가하고 효능 및 세포 확장에 미치는 투여 영향을 평가하는 실험 설계를 예시한다.

[도 21b]는 단일 또는 분할 용량의 TAC-CD19로 처리된 NALM-6 보유 마우스의 생체 내 생존율을 예시한다.

[도 22a] 내지 [도 22b]는 분할 용량 투여 후 TAC-CD19의 생체 내 확장에 관한 실험 설정 및 데이터를 예시한다. [도 22a]는 마우스 혈액에서 T 세포를 확인하기 위해 사용된 게이팅 전략을 예시한다. [도 22b]는 혈액에서 T 세포 확장의 생체 내 결과를 예시한다.

[도 23a] 내지 [도 23c]는 마우스에서 TAC-CD19의 장기간 생체 내 연구를 예시한다. [도 23a]는 2개의 용량 수준에서 다양한 대조군 및 TAC-CD19로 처리되는 NALM-6 보유 마우스의 실험 프로토콜을 예시한다. [도 23b]는 대조군 대 2개의 용량 수준의 TAC-CD19 처리 그룹의 생체 내 효능을 예시한다. [도 23c]는 저용량 TAC-CD19 처리된 마우스의 장기간 생존율을 예시한다.

[도 24]는 TAC-CD19 또는 형질 도입되지 않은 T 세포로 처리된 마우스로부터의 임상 화학 분석 결과를 예시한다.

[도 25]는 TAC-CD19 또는 형질 도입되지 않은 T 세포로 처리한 후 마우스 혈액에서 방출된 인간 사이토카인을 예시한다.

[도 26a] 내지 [도 26c]는 상이한 구성에서 BCMA-TAC의 효능을 예시한다. [도 26a]는 실험 설계를 예시한다. [도 26b]는 다양한 대조군 및 테스트 제품을 예시한다. [도 26c]는 다양한 TAC 구축물의 생체 내 효능을 예시한다. [도 26a] 내지 [도 26c]는 서열 번호 73으로서 "G_4S"를 개시한다.

[도 27]은 TAC가 세포 상의 항원을 만날 때 증식하지만 항원이 인공 비드에 제시될 때는 증식하지 않음을 예시한다. 그러나 CAR은 항원이 비드 또는 세포에 존재하는 경우에 관계없이 증식한다.

[도 28a] 내지 [도 28b]는 TAC 조작된 T 세포가 생체 내에서 확장되고 장기간 보호를 제공하여 골수종 모델에서 세포 지속성을 나타냄을 예시한다. [도 28a] 내지 [도 28b]는 NanoLuc(KMS 11-NanoLuc)(BCMA^{pos})로 조작된 KMS-11 이종 이식 모델에서 BCMA-TAC T 세포가 다발성 골수종 종양을 거부함을 예시한다. 종양 생착 후 마우스를 BCMA TAC-T 세포(반딧불이 루시퍼라제를 보유)로 처리하였다. TAC-T 세포는 투여 후 크게 확장된다. 이는 종양 퇴행과 관련된다. 처리된 마우스는 TAC-T 세포의 장기간 지속성을 나타내는 종양 재투여에 내성이 있었다.

[도 29]는 TAC-CD19 또는 형질 도입되지 않은 T 세포로 처리한 후 마우스 혈액에서 방출된 인간 사이토카인을 예시한다.

[도 30]은 CD4 및 CD8 조작된 T 세포에서 TAC 수용체 표면 발현의 대표적인 히스토그램을 예시한다. 세포는 muIgG HER2 TAC (EF1α 프로모터), huIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터) 및 muIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터)로 조작하였다. 조작 후, T 세포를 TAC 특이적 시약으로 염색하고 유세포 분석을 사용하여 측정하였다. 모든 구축물은 유사한 수준의 표면 발현을 나타내며, EF1α 유도 발현은 MSCV 구축물에 비해 더 높다.

[도 31]은 OVCAR3(HER2 양성) 또는 LOX IMVI(HER2 음성) 세포와 공동 배양한 후 TNFα, IFNɣ 또는 IL-2를 발현하는 T 세포의 상대적 백분율을 예시한다. T 세포는 muIgG HER2 TAC(EF1α 프로모터), HER2 결합 도메인이 없는 TAC 구축물(△결합 TAC; EF1α 프로모터), huIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터) 또는 muIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터)로 조작하였다. LOX-IMVI(HER2^{neg})와 공동 배양할 때, △결합 TAC 대조군 및 HER2 TAC 세포는 유의미한 사이토카인 발현을 나타내지 않는다. OVCAR3(HER2^{pos})와 공동 배양된 모든 HER2 TAC 조작된 구조물은 사이토카인을 생산하는 유사한 능력을 보이는 반면, △결합 TAC로 조작된 대조군 T 세포는 유의미한 사이토카인 생산을 나타내지 않는다.

[도 32]는 OVCAR3 고형 종양 모델에서 TAC 조작된 T 세포의 생체 내 효능을 예시한다. T 세포는 △결합 TAC(EF1α 프로모터), muIgG HER2 TAC(EF1α 프로모터), huIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터) 또는 muIgG HER2 TAC(MSCV 프로모터)로 조작하였다. 마우스에 OVCAR3(HER-2 양성) 종양을 피하 접종하였다. 이들은 약 100 mm^3 크기로 성장하였다. 그 다음 마우스에 HER2 TAC 조작된, 또는 △결합 TAC 대조군 T 세포를 꼬리 정맥 주사를 통해 48시간 간격으로 처리하였다. 종양 진행은 격주로 측정하여 추적하였다. △결합 TAC는 종양 제어 또는 종양 퇴행을 보이지 않았다. 모든 HER2 TAC 조작된 T 세포는 대조군 마우스에 비해 종양 퇴행을 포함하여 종양 진행이 상당히 감소한 것으로 나타났다. 모든 HER2 TAC 조작된 T 세포는 유사한 항종양 활성을 보였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0023] 암은 주요 건강 문제로, 캐나다에서만 150,000건이 넘는 암 사례가 진단되는 것으로 예상된다. 초기 단계 질환 환자는 때때로 기존 요법(수술, 방사선, 화학 요법)으로 효과적으로 치료되지만, 진행된 질환 환자에게 이용할 수 있는 옵션은 거의 없으며, 이러한 옵션은 일반적으로 본질적으로 완화적이다.

[0024] 능동 면역 요법은 환자의 면역계를 이용하여 종양을 제거하고자 하며 기존 요법에 실패한 환자에게 옵션을 제공한다. 일반적으로 이 치료법은 많은 수의 종양 특이적 T 세포를 환자에게 주입하는 단계를 포함한다. 이 접근법은 흑색종, 골수종, 백혈병, 림프종 및 활막 육종을 포함한 여러 질환에 대한 초기 임상 시험에서 성공적으로 입증되었다. 구체적인 예로서, 여러 임상 연구에서 T 세포를 이용한 면역 요법이 진행성 흑색종 환자에서 치료적이라는 사실이 입증되어 이 접근법의 유용성을 확인하였다. 또한, 만성 림프구성 백혈병(CLL)과 급성 림프구모구성 백혈병(ALL)을 앓고 있는 환자도 T 세포 면역 요법으로 효과적으로 치료 및 치유되었다.

[0025] 입양 T 세포 요법의 임상적 적용에 직면한 주요 문제는 T 세포의 공급원이다. 전형적으로, 종양 보유 환자로부터 단리된 T 세포를 생체 외에서 많은 수로 배양하여 환자에게 다시 투여하여 강력한 항종양 면역 반응을 유도한다. 종양 특이성은 다음 중 하나에 의해 달성된다: (i) 환자로부터 자연 발생의 종양 특이적 T 세포를 단리하는 단계; 또는 (ii) 종양 특이적 수용체를 발현하도록 말초 혈액으로부터 벌크 T 세포를 조작하는 단계. 자연적으로 발생하는 종양 특이적 T 세포는 드물며 암 환자로부터 이러한 세포를 치료량으로 단리하는 것은 힘들고 비용이 많이 드는 절차이다. 대조적으로, 유전자 조작을 통해 종양 특이적 수용체를 가진 쉽게 이용 가능한 말초 T 세포를 조작하는 것이 더 효율적이 되고 있다. 임상적으로 실행 가능한 이 조작 과정을 위한 기술이 개발되었으며, 여러 임상 시험에서 암 치료를 위해 유전적으로 조작된 T 세포의 실행 가능성과 효능이 입증되었다.

[0026] 이 시점까지, T 세포의 유전적 변형을 포함하는 대부분의 조작된 T 세포 요법은 (i) T 세포 수용체(TCR)의 강제 발현; 또는 (ii) 종양 상의 항원 표적에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)를 초래한다. 현재까지, T 세포를 조작하는데 사용되는 키메라 항원 수용체는 (i) 표적화 도메인, 일반적으로 단쇄 가변 단편(scFv); (ii) 막 횡단 도메인; 및 (iii) T 세포 수용체 및 관련 단백질로부터의 신호 전달 요소를 포함하는 시토졸 도메인으로 이루어진다. 이러한 키메라 항원 수용체는 "T-바디(T-body)" 또는 "키메라 면역 수용체(CIR: Chimeric Immune Receptor)라고도 지칭되어 왔지만, 현재 대부분의 연구자들은 "CAR"이라는 용어를 사용한다. CAR 접근법의 한 가지 장점은 임의의 환자의 면역 세포가 주요 조직 적합성 복합체(MHC: major histocompatibility complex) 독립적인 방식으로 임의의 바람직한 표적에 대해 표적화될 수 있다는 것이다. 이는 MHC 제시가 종양 세포에서 종종 결함이 있기 때문에 관심을 끌고 있다.

[0027] CAR은 모듈식 관점으로 고려되며 과학자들은 CAR 기능에 대한 다양한 세포질 신호 전달 도메인의 영향을 조사하는 데 상당한 시간을 소비했다. 통상적인 CAR은 일반적으로 두 가지 주요 성분인 (i) T 세포 활성화에 중요한 면역 티로신 활성화 모티프(ITAM: immunotyrosine activation motif)를 포함하는 CD3 제타 세포질 도메인; 및 (ii) Akt 경로와 같은 중요한 생존 경로를 유발하는 보조 자극 수용체의 성분을 공유한다.

[0028] 1세대 CAR은 CD3ζ 또는 FcεRIγ로부터의 단일 신호 전달 도메인을 사용하였다. 2세대 CAR은 CD3ζ의 신호 전달 도메인을 CD28 또는 TNFR 수용체 패밀리로부터의 보조 자극 수용체의 세포질 도메인과 결합시켰다. 현재 임상에서 테스트되고 있는 대부분의 CAR 조작된 T 세포는 CD3ζ가 CD28 또는 CD137의 세포질 도메인에 결합된 2세대 CAR을 사용한다. 이러한 2세대 CAR은 CD19 양성 종양에서 항종양 활성을 입증하였다. 3세대 CAR은 다수의 보조 자극 도메인을 결합했지만 3세대 CAR은 항원 특이성을 잃을 수 있다는 우려가 있다.

[0029] CAR 조작된 T 세포는 임상 적용에서 상당한 가능성을 보였지만, 이들은 T 세포 수용체(TCR)에 의해 제공되는 천연 활성화 신호를 대체하기 위한 합성 방법에 의존한다. 이 합성 수용체는 TCR(예: CD3γ, CD3δ, CD3ε 상의 ITAM)과 관련된 모든 신호 전달 성분을 전달하지 않기 때문에, T 세포가 CAR에 의해 최적으로 활성화되는지 또는 CAR 활성화가 T 세포 분화(예: 기억으로의 진행)에 어떻게 영향을 미치는지 명확하지 않는다. 또한, CAR 신호 전달 도메인은 바로 CAR 구조의 특성상 천연 조절 파트너와 연결이 끊어지기 때문에, CAR이 낮은 수준의 구성적 활성화로 이어질 수 있다는 내재적 위험이 있으며, 이는 표적을 벗어난 독성을 초래할 수 있다. 따라서, 프로토타입 CAR의 합성 특성은 TCR 활성화를 제한하는 표준 메커니즘을 방해할 수 있으며, 종종 기존 CAR T 세포의 치료량과 관련된 심각한 독성을 뒷받침할 수 있다.

[0030] 이러한 한계를 감안할 때, T 세포가 천연 TCR을 통해 종양을 공격하도록 전용하는 것이 바람직하다. 이를 위해 "이중 특이적 T 세포 인게이저"(BiTE: Bispecific T-cell Engagers)라고 하는 재조합 단백질 부류가 만들어졌다. 이들 단백질은 이중 특이적 항체 단편을 사용하여 T 세포 TCR 수용체를 표적 항원과 가교 결합시킨다. 이는 효율적인 T 세포 활성화를 유도하여 세포 독성을 유발한다. 유사하게, 이 목표를 달성하는 이중 특이적 항체가 생성되었으며 일부 과학자들은 화학적 연결을 사용하여 항-CD3 항체를 종양 특이적 항체에 간단히 연결하였다. 이러한 이중 특이적 단백질은 시험관 내에서 약간의 활성을 보여 주었지만, GMP 생산, 짧은 생물학적 반감기, 및 제한된 생체 이용률은 암 치료에서 이러한 분자를 성공적으로 사용하는 데 심각한 문제를 제시한다. 또한, 이러한 분자는 TCR 공수용체(CD8 및 CD4)와 결합하지 않기 때문에 천연 TCR 신호 전달을 제대로 재현하지 못한다.

[0031] 상기의 관점에서, 활성 및 안전성이 향상된 키메라 수용체가 여전히 요구된다.

[0032] 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC 또는 TAC) 수용체라고 하는 대체 키메라 수용체가 개발되었으며, 이는 T 세포가 종양을 공격하도록 지시하기 위해 별개의 생물학을 사용한다. CAR은 T 세포 수용체(TCR) 신호 전달 복합체의 구성 요소를 함께 연결하는 완전 합성 수용체인 반면, TAC 수용체는 종양 표적에 TCR을 배치하고 천연 TCR 신호 전달 구조를 재현한다. 예를 들어, 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 MHC 제한받지 않는 표적화를 유지하면서 T 세포 수용체(TCR)를 통한 천연 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 신호 전달을 활성화한다. 또한, 본원에 개시된 TAC는 공수용체 자극과 조합하여 T 세포 수용체(TCR)를 동원한다. 더욱이, 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 Tri-TAC는 향상된 활성 및 안전성을 나타낸다.

[0033] **특정 용어**

[0034] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "T 세포"는 세포 매개 면역에서 중심 역할을 하는 림프구 유형을 지칭한다. T 림프구라고도 하는 T 세포는 세포 표면에 T 세포 수용체(TCR)가 존재하여 B 세포 및 자연 살해 세포와 같은 다른 림프구와 구별된다. T 헬퍼 세포, 세포 독성 T 세포, 기억 T 세포, 조절 T 세포 및 자연 살해 T 세포를 포함

하지만 이에 제한되지 않는 별개의 기능을 가진 T 세포의 여러 하위 집단이 있다.

[0035] 용어 "T 세포-항원 커플러" 또는 TAC는 "삼기능성 T 세포-항원 커플러" 또는 Tri-TAC와 상호 교환적으로 사용되며, T 세포에서 발현될 때 특정 항원에 대한 T 세포의 표적화를 용이하게 하는 데 도움이 되는 조작된 핵산 구축물 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시 양태에서, TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) T 세포 수용체(TCR) 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드, 및 (c) T 세포 수용체 신호 전달 도메인을 포함한다.

[0036] 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "폴리뉴클레오티드" 및/또는 "핵산 서열" 및/또는 "핵산"은 염기, 당 및 당간(백본) 연결로 이루어진 뉴클레오시드 또는 뉴클레오티드 단량체의 서열을 지칭한다. 이 용어는 또한 비-자연 발생 단량체 또는 이의 일부를 포함하는 변형 또는 치환된 서열을 포함한다. 본 출원의 핵산 서열은 데옥시리보핵산 서열(DNA) 또는 리보핵산 서열(RNA)일 수 있으며, 아데닌, 구아닌, 시토신, 티미딘 및 우라실을 포함하는 자연 발생 염기를 포함할 수 있다. 서열은 또한 변형된 염기를 포함할 수 있다. 이러한 변형된 염기의 예로는 아자 및 데아자 아데닌, 구아닌, 시토신, 티미딘 및 우라실; 및 크산틴 및 하이포크산틴이 포함된다. 본 개시 내용의 핵산은 생물학적 유기체로부터 단리되거나, 유전자 재조합의 실험실 방법에 의해 형성되거나 핵산 생성을 위한 화학적 합성 또는 다른 공지된 프로토콜에 의해 수득될 수 있다.

[0037] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "단리된 폴리뉴클레오티드" 또는 "단리된 핵산 서열"은 재조합 DNA 기술에 의해 생성될 때 세포 물질 또는 배양 배지, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체, 또는 기타 화학 물질이 실질적으로 없는 핵산을 지칭한다. 단리된 핵산은 또한 핵산이 유래된 핵산에 자연적으로 측면에 있는 서열(즉, 핵산의 5' 및 3' 말단에 위치한 서열)이 실질적으로 없다. 용어 "핵산"은 DNA 및 RNA를 포함하는 것으로 의도되고 이중 가닥 또는 단일 가닥이며 센스 또는 안티센스 가닥을 나타낸다. 또한, 용어 "핵산"은 상보적 핵산 서열을 포함한다.

[0038] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "재조합 핵산" 또는 "조작된 핵산"은 생물학적 유기체에서 발견되지 않는 핵산 또는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 예를 들어, 재조합 핵산은 유전자 재조합의 실험실 방법(예컨대, 분자 클로닝)에 의해 형성되어 달리 자연에서 발견되지 않는 서열을 생성할 수 있다. 재조합 핵산은 화학적 합성 또는 핵산 생성을 위한 기타 알려진 프로토콜에 의해 생성될 수도 있다.

[0039] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 아미노산 을 기술한다. 본 개시 내용의 폴리펩티드 또는 단백질은 일반적으로 아미노산 을 기술하는 펩티드이다. 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 단백질은 또한 하나 이상의 아미노산 을 포함하는 큰 분자를 기술하고, 일부 실시 양태에서 단백질의 단편 또는 도메인 또는 전장 단백질이다. 또한, 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 단백질은 아미노산의 선형 또는 기능성 단백질로 가공 및 접힌 아미노산을 지칭한다. 단백질 구조는 4가지 특징적인 수준으로 나뉜다: (1) 폴리펩티드 사슬의 아미노산 서열을 나타내는 1차 구조, (2) 폴리펩티드 백본 사슬의 규칙적인 국소의 부분 구조, 예컨대 α-나선 및 β-시트를 나타내는 2차 구조, (3) 단량체 및 다량체 단백질 분자일 경우 3차원 구조를 나타내는 3차 구조, (4) 단일 기능 단위로서 작동하는 2개 이상의 개별 폴리펩티드 사슬의 응집을 형성하는 3차원 구조를 나타내는 4차 구조. 본 개시 내용의 단백질은 일부 실시 양태에서, 단백질이 자연적으로 생성되는 세포로부터 이들을 단리 및 정제함으로써, 효소적(예를 들어, 단백질 분해) 절단에 의해서, 및/또는 본 개시 내용의 단백질 또는 단편을 코딩하는 핵산의 발현에 의해 재조합적으로 수득된다. 일부 실시 양태에서, 본 개시 내용의 단백질 및/또는 단편은 단백질 및 단편을 생성하기 위한 화학적 합성 또는 기타 공지된 프로토콜에 의해 수득된다.

[0040] 용어 "단리된 폴리펩티드"는 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 때 세포 물질 또는 배양 배지, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학 물질이 실질적으로 없는 폴리펩티드를 지칭한다.

[0041] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "항체"는 단클론 항체, 다클론 항체, 단쇄 항체, 키메라 항체, 및 항체 융합체를 포함하는 것으로 의도된다. 항체는 재조합 공급원으로부터 유래하고/거나 트랜스제닉 동물에서 생산될 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "항체 단편"은 제한 없이 Fab, Fab', F(ab')2, scFv, dsFv, ds-scFv, 이량체, 미니바디, 디아바디, 및 이의 다량체, 다중 특이적 항체 단편 및 도메인 항체를 포함하는 것으로 의도된다.

[0042] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "벡터"는 핵산을 세포 내부로 전달하는 데 사용되는 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 일부 실시 양태에서, 벡터는 세포에서 발현될 핵산에 작동 가능하게 연결된 발현 제어 서열(예를 들어, 프로모터)을 포함하는 발현 벡터이다. 당 업계에 공지된 벡터는 플라스미드, 파지, 코스미드 및 바이러스를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0043] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "종양 항원" 또는 "종양 관련 항원"은 숙주에서 면역 반응을 유발하는(예를 들

어, MHC 복합체에 의해 제공되는) 종양 세포에서 생성된 항원 물질을 지칭한다. 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 종양 세포의 표면에 있다.

[0044] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "T 세포 수용체" 또는 TCR은 항원의 결합에 반응하여 T 세포의 활성화에 참여하는 내재 막 단백질의 복합체를 지칭한다. TCR은 일반적으로 불변 CD3(분화 클러스터 3) 사슬 분자와의 복합체의 일부로서 발현되는 고도로 가변적인 알파(α) 및 베타(β) 사슬로 이루어진 이황화 결합된 막 고정 이종 이량체이다. 이 수용체를 발현하는 T 세포는 α:β(또는 αβ) T 세포로 지칭되지만, 소수의 T 세포는 γδ T 세포라고 하는 가변 감마(γ) 및 델타(δ) 사슬에 의해 형성된 대체 수용체를 발현한다. CD3은 4개의 별개의 사슬로 구성된 단백질 복합체이다. 포유동물에서, 복합체는 CD3γ 사슬, CD3δ 사슬, 두 개의 CD3ε 사슬 및 두 개의 CD3ζ 사슬을 포함한다.

[0045] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "막 횡단 및 시토졸 도메인"은 T 세포 수용체(TCR) 복합체와 관련된 단백질의 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 지칭한다. 일부 실시 양태에서, 이러한 막 횡단 및 시토졸 도메인은 (a) 지질 뗏목(raft)과 결합하고/거나 (b) Lck에 결합하는 단백질 도메인을 포함할 수 있지만 이에 제한되지 않는다.

[0046] 본원에 사용되는 바와 같이, "TCR 공수용체"는 항원 제시 세포와의 통신에서 T 세포 수용체(TCR)를 보조하는 분자를 지칭하며, TCR의 활성화를 유도하는 첫 번째 신호의 일부로 간주될 수 있다. TCR 공수용체의 예는 CD4, LAG3, 및 CD8을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0047] 본원에 사용되는 바와 같이 "TCR 보조 자극제"는 항원에 대한 T 세포의 반응을 향상시키는 분자를 지칭하고 TCR의 활성화를 유도하는 제2 신호로서 간주될 수 있다. TCR 보조 자극제의 예에는 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드, ICOS, CD27, CD28, 4-1BB(CD 137), OX40(CD134), CD30, CD40, 림프구 기능 관련 항원 1(LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C, 및 B7-H3이 포함되지만 이에 제한되지 않는다. .

[0048] 본원에 사용되는 바와 같이 "TCR 보조 억제제" 또는 "체크포인트 수용체"는 항원에 대한 T 세포의 반응을 억제하는 분자를 지칭한다. TCR 보조 억제제의 예는 PD-1, TIM3, LAG-3, TIGIT, BTLA, CD160, 및 CD37을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0049] 용어 "수여자", "개체", "대상체", "숙주" 및 "환자"는 본원에서 상호 교환적으로 사용되며 일부 실시 양태에서 진단, 치료, 또는 요법이 필요한 임의의 포유동물 대상체, 특히 인간을 지칭한다. 치료 목적을 위한 "포유동물"은 인간, 가축 및 농장 동물, 실험실, 동물원, 스포츠 또는 애완용 동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소, 양, 염소, 돼지, 마우스, 래트, 토끼, 기니피그, 원숭이 등을 포함하여 포유동물로서 분류된 모든 동물을 지칭한다. 일부 실시 양태에서, 포유동물은 인간이다. 이 용어 중 어느 것도 의료진의 감독을 필요로 하지 않는다.

[0050] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료", "치료하는" 등은 일부 실시 양태에서 효과를 얻기 위한 목적으로 작용제를 투여하거나 절차를 수행하는 것을 지칭한다. 효과는 질환 또는 이의 증상을 완전히 또는 부분적으로 예방하는 측면에서 예방적일 수 있고/거나 질환 및/또는 질환의 증상에 대한 부분적 또는 완전한 치유에 영향을 미치는 측면에서 치료적일 수 있다. 본원에 사용되는 바와 같이, "치료"는 포유동물, 특히 인간에서 질환 또는 장애(예를 들어, 암)의 치료를 포함할 수 있으며, 다음을 포함한다: (a) 질환 또는 질환의 증상이 질환에 걸리기 쉬울 수 있지만 아직 질환에 걸린 것으로 진단되지 않은 대상체에서 발생하는 것을 방지하는 것(예를 들어, 원발성 질환과 관련되거나 그로 인해 유발될 수 있는 질환 포함); (b) 질환을 억제하는 것, 즉 그의 발생을 저지하는 것; 및 (c) 질환을 완화시키는 것, 즉 질환의 퇴행을 유발하는 것. 치료는 암의 치료 또는 개선 또는 예방의 모든 성공 지표를 의미할 수 있다. 여기에는 경감; 완화; 증상 감소; 또는 환자가 더 잘 견딜 수 있는 질환 상태; 퇴행 또는 쇠퇴 속도의 지연; 또는 퇴행의 최종 지점의 약화 감소와 같은 모든 객관적 또는 주관적 매개 변수가 포함된다. 증상의 치료 또는 개선은 의사의 검사 결과 포함하는 하나 이상의 객관적 또는 주관적 매개 변수를 기준으로 한다. 따라서, 용어 "치료"는 질환(예를 들어, 암)과 관련된 증상 또는 병태의 발생을 예방, 지연, 완화, 저지 또는 억제하기 위한 본 발명의 화합물 또는 작용제의 투여를 포함한다. 용어 "치료 효과"는 대상체에서 질환, 질환의 증상 또는 질환의 부작용의 감소, 제거, 또는 예방을 지칭한다.

[0051] 본원에 사용되는 바와 같이, 단수 형태 "a", "and" 및 "the"는 문맥상 달리 명확하게 나타내지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "항체"에 대한 언급은 복수의 항체를 포함하고 일부 실시 양태에서 "항체"에 대한 언급은 다수의 항체 등을 포함한다.

[0052] 본원에 사용되는 바와 같이, 모든 수치 또는 수치 범위는 문맥이 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 상기 범위 내 또는 상기 범위를 포함하는 모든 정수 및 범위 내 또는 범위를 포함하는 값 또는 정수의 분수를 포함한다.

따라서, 예를 들어 90 내지 100% 범위에 대한 언급은 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 95%, 96%, 97% 등, 뿐 아니라 91.1%, 91.2%, 91.3%, 91.4%, 91.5% 등, 92.1%, 92.2%, 92.3%, 92.4%, 92.5% 등 등을 포함한다. 또 다른 예에서, 1 내지 5,000배의 범위에 대한 언급은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20배 등, 뿐 아니라, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5배 등, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5배 등 등을 포함한다.

[0053] 본원에 사용된 "약" 숫자는 숫자를 포함하고 그 숫자보다 10% 아래에서 그 숫자보다 10% 위 사이의 범위를 의미한다. "약" 범위는 범위의 하한보다 10% 낮고 범위의 상한보다 10% 높은 범위를 나타낸다.

[0054] "퍼센트 동일성(%)"은 2개의 서열(뉴클레오티드 또는 아미노산)이 정렬의 동일한 위치에 동일한 잔기를 갖는 정도를 의미한다. 예를 들어, "아미노산 서열은 서열 번호 Y와 X% 동일하다"는 서열 번호 Y에 대한 아미노산 서열의 % 동일성을 의미하며 아미노산 서열의 잔기 X%가 서열 번호 Y에 개시된 서열의 잔기와 동일하다고 설명된다. 일반적으로, 이러한 계산에 컴퓨터 프로그램이 사용된다. 서열 쌍을 비교하고 정렬하는 예시적인 프로그램은 ALIGN(Myers and Miller, 1988), FASTA(Pearson and Lipman, 1988; Pearson, 1990) 및 gapped BLAST(Altschul et al., 1997), BLASTP, BLASTN 또는 GCG(Devereux et al., 1984)를 포함한다.

[0055] 본원에 사용되는 바와 같이, 용어 "선택적 결합"은 분자(예를 들어, TAC의 표적 결합 리간드와 같은 단백질)가 다른 분자보다 그의 표적 분자(예를 들어, HER-2, BCMA, 또는 CD19와 같은 표적 항원)에 결합하는 더 높은 친화도를 의미한다.

[0056] **T 세포-항원 커플러(Tri-TAC 또는 TAC)**

[0057] 특정 실시 양태에서, 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC)를 코딩하는 핵산이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC를 코딩하는 핵산은 (a) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (b) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; 및 (c) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC를 코딩하는 핵산은 보조 자극 도메인을 코딩하지 않는다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC를 코딩하는 핵산은 보조 활성화 도메인을 코딩하지 않는다.

[0058] *표적 특이적 리간드*

[0059] 항원 결합 도메인으로도 지칭되는 표적 특이적 리간드는 표적 세포에 직접 또는 간접적으로 결합하는 임의의 물질 또는 분자를 지칭한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 표적 세포 상의 항원에 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 세포는 암, 혈액 악성 종양, 거대 B 세포 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 원발성 종격동 B 세포 림프종, 고등급 B 세포 림프종, 또는 여포성 림프종에서 발생하는 거대 B 세포 림프종을 포함하는, 그러나 이에 제한되지 않는 질환 상태와 관련된 세포이다. 일부 실시 양태에서, 표적 세포는 종양 세포이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 종양 세포 상의 종양 항원 또는 종양 관련 항원에 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 항원은 종양 항원이다. 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 단백질성일 경우 8개 이상의 아미노산에서 전체 단백질까지의 서열이다. 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 주요 조직 적합성 복합체(MHC: Major Histocompatibility Complex)에 제시된 전장 단백질의 적어도 하나의 항원성 단편을 포함하는 8 내지 전장 단백질의 임의의 수의 아미노산이다. 종양 항원의 예는 CD19, HER-2(erbB-2), B 세포 성숙 항원(BCMA: B-cell maturation antigen), 알파 태아 단백질(AFP: alphafetoprotein), 암 배아 항원(CEA: carcinoembryonic antigen), CA-125, MUC-1, 상피 종양 항원(ETA: epithelial tumor antigen), 티로시나제, 흑색종 관련 항원(MAGE: melanoma-associated antigen), 전립선 특이적 항원(PSA: prostate-specific antigen), 신경 교종 관련 항원, β-인간 융모성 성선 자극 호르몬, 티로글로불린, RAGE-1, MN-CA IX, 인간 텔로머라제 역전사 효소, RU1, RU2(AS), 장 카복실 에스테라제, mut hsp70-2, M-CSF, 프로스타제, PAP, NY-ESO-1, LAGE-1a, p53, 프로스테인, PSMA, 서바이빈 및 텔로머라제, 전립선 암종 종양 항원-1(PCTA-1: prostate-carcinoma tumor antigen-1), ELF2M, 호중구 엘라스타제, CD22, 인슐린 성장 인자(IGF)-I, IGF-II, IGF-I 수용체 및 메소텔린을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0060] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 표적 세포 및/또는 항원에 결합하는 항체 및 이의 단편, 예를 들어 단쇄 항체(scFv)와 같은 단쇄 항체, 단일 도메인 항체, 펩티드, 펩티도미메틱(peptidomimetics), 단백질, 당단백질, 또는 프로테오글리칸을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 종양 항원에 대한 설계된 안키린 반복 단백질(DARPin), 렉틴, 노틴, 센티린, 안티칼린, 또는 자연 발생 리간드, 예컨대 성장 인자, 효소 기질, 수용체 또는 결합 단백질을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 탄수화물, 지질, 핵산, 또는 소분자를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 표적 세포 및/또는 항원에 결합하는 비-단백질 화합물을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 특정 세포

및/또는 항원을 표적화하는 설계된 안키린 반복체(DARPin)이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 특정 세포 및/또는 항원에 표적화하는 단쇄 가변 단편(ScFv)이다.

[0061] 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 HER-2 항원이다. 일부 실시 양태에서, HER-2 특이적 리간드는 트라스투주맙, 퍼투주맙, 라파티닙, 네라티닙, 아도-트라스투주맙 엠탄신, 간코타맙, 마르게툭시맙, 티미구투주맙, 및 에르투막소맙으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2(erbB-2) 항원에 선택적으로 결합하는 DARPin이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2(erbB-2) 항원에 특이적으로 결합하는 DARPin이다. 일부 실시 양태에서, HER-2(erb-2)에 표적화하는 DARPin은 서열 번호 7 또는 서열 번호 8을 포함한다.

[0062] 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 7의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0063] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 8의 아미노산 서열을 포함한다.

[0064] 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 BCMA 항원이다. 일부 실시 양태에서, BCMA 특이적 리간드는 벨란타맙 마포도틴, 및 GSK2857916으로부터 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA에 선택적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA에 특이적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, BCMA에 결합하는 scFv는 서열 번호 33 또는 서열 번호 34를 포함한다.

[0065] 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 33의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0066] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 34의 아미노산 서열을 포함한다.

[0067] 일부 실시 양태에서, 종양 항원은 CD19 항원이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19에 선택적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19에 특이적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, CD19에 결합하는 scFv는 서열 번호 35 또는 서열 번호 36을 포함한다.

[0068] 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 35의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0069] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 서열 번호 36의 아미노산 서열을 포함한다.

[0070] *TCR 복합체에 결합하는 리간드*

[0071] 일부 실시 양태에서, TAC는 TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 TCR의 단백질에 직접 또는 간접적으로 결합하는 물질을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 TCR의 단백질에 선택적으로 결합하는 물질을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 TCR의 단백질에 특이적으로 결합하는 물질을 포함한다. TCR과 관련된 단백질은 TCR 알파(α) 사슬, TCR 베타(β) 사슬, TCR 감마(ɣ) 사슬, TCR 델타(δ) 사슬, CD3ɣ 사슬, CD3δ 사슬 및 CD3ε 사슬을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 TCR 알파(α) 사슬, TCR 베타(β) 사슬, TCR 감마(ɣ) 사슬, TCR 델타(δ) 사슬, CD3ɣ 사슬, CD3δ 사슬 및/또는 CD3ε 사슬에 대한 항체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3ε이다. CD3 항체의 예는 다음을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, CD3에 결합하는 항체는 단쇄 항체, 예를 들어 단쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시 양태에서, TCR에 결합하는 리간드는 항-CD3 항체, 또는 이의 단편, 예컨대 무로모납(muromonab), 오텔릭시주맙(otelixizumab), 테플리주맙(teplizumab), 비실리주맙(visilizumab), CD3-12, MEM-57, 4D10A6, CD3D, 또는 TR66이다.

[0072] 일부 실시 양태에서, CD3은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포 상의 TCR 복합체의 것이다. 일부 실시 양태에서, CD3의 결합은 제2 폴리뉴클레오티드를 발현하는 세포의 활성화를 유도한다.

[0073] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 UCHT1, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 UCHT1(서열 번호 13, 서열 번호 14 또는 이들의 상동체)이다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 서열 번호 13에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 서열 번호 14를 포함한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 돌연변이된다. 일부 실시 양태에서, UCHT1 리간드는 Y182T 돌연변이를 포함한다(UCHT1(Y182T)로도 지칭됨)(서열 번호 71 및 서열 번호 72). 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 서열 번호 71에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, UCHT1(Y182T) 리간드는 서열 번호 72를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 인간화 UCHT1(huUCHT1)이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 huUCHT1(서열 번호 43, 서열 번호 44 또는 이들의 상동체)이다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서,

huUCHT1 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 서열 번호 43에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 서열 번호 44를 포함한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1은 Y177T 돌연변이를 갖는다(huUCHT1(Y177T)이라고도 지칭됨)(서열 번호 45 및 서열 번호 46). 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1(Y177T) 리간드는 서열 번호 45에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, huUCHT1 리간드는 서열 번호 46을 포함한다.

[0074] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 13의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0075] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 14의 아미노산 서열을 포함한다.

[0076] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 71의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0077] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 72의 아미노산 서열을 포함한다.

[0078] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에

서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0079] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 44의 아미노산 서열을 포함한다.

[0080] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 43과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 45의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0081] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 46의 아미노산 서열을 포함한다.

[0082] 일부 실시 양태에서, CD3에 결합하는 리간드는 OKT3이다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 뮤린 OKT3 리간드는 서열 번호 21에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, OKT3 리간드는 서열 번호 22를 포함한다.

[0083] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 21의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0084] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 22의 아미노산 서열을 포함한다.

[0085] 일부 실시 양태에서, CD3에 결합하는 리간드는 F6A이다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3에 결합한다. 일

부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 뮤린 F6A 리간드는 서열 번호 23에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, F6A 리간드는 서열 번호 24를 포함한다.

[0086] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 23의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0087] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 24의 아미노산 서열을 포함한다.

[0088] 일부 실시 양태에서, CD3에 결합하는 리간드는 L2K이다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3에 결합한다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3ε에 결합한다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3ε에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 CD3ε에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 뮤린 L2K 리간드는 서열 번호 25에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, L2K 리간드는 서열 번호 26을 포함한다.

[0089] 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 25의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0090] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드는 서열 번호 26의 아미노산 서열을 포함한다.

[0091] *막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인*

[0092] 일부 실시 양태에서, T 세포-항원 커플러는 T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 막 횡단 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인은 선택적으

로 링커에 의해 연결된다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 공수용체 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 보조 자극 도메인을 포함하지 않는다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 공수용체의 막 횡단 도메인 및/또는 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 공수용체는 CD4, CD8, LAG3, 또는 이들의 키메라 변이체이다.

[0093] 일부 실시 양태에서, TCR 공수용체는 CD4이다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 17에 의해 코딩된 CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 18을 포함하는 CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0094] 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 17의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0095] 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 18의 아미노산 서열을 포함한다.

[0096] 일부 실시 양태에서, TCR 공수용체는 CD8이다. 일부 실시 양태에서, TCR 공수용체는 CD8α이다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 37에 의해 코딩된 CD8α 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 38을 포함하는 CD8α 공수용체의 막 횡단 및 세포질 도메인을 포함한다.

[0097] 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0098] 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 38의 아미노산 서열을 포함한다.

[0099] 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 공수용체로부터의 서열 또는 도메인의 키메라를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 CD8α와 CD8β의 키메라를 포함하며, 여기서

CD8α 아르기닌 풍부 영역은 CD8β 아르기닌 풍부 영역으로 대체된다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 39에 의해 코딩된 CD8α+R(β) 공수용체 키메라의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 40에 의해 제공된 CD8α+R(β) 공수용체 키메라의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 CD8β 시토졸 도메인의 C-말단에 첨부된 Lck 결합 모티프를 함유하는 CD8α와 CD8β의 키메라인 CD8α CXCP 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 41에 의해 코딩된 CD8β+Lck 공수용체 키메라의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 서열 번호 42에 의해 제공된 CD8β+Lck 공수용체 키메라의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0100] 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 39의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0101] 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함한다.

[0102] 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 37과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 제3 폴리뉴클레오티드는 서열 번호 41의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0103] 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인은 서열 번호 42의 아미노산 서열을 포함한다.

[0104] 일부 실시 양태에서, T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 보조 자극 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 ICOS이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD27이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD28이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 4-1BB(CD137)이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 OX40(CD134)이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD30이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD40이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 림프구 기능 관련 항원 1(LFA-1)이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD2이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD7이다. 일부

실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 LIGHT이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 NKG2C이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 B7-H3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 자극제는 CD83에 특이적으로 결합하는 리간드이다.

[0105] 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 보조 억제제의 막 횡단 도메인 및/또는 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 PD-1이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 TIM3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 LAG-3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 TIGIT이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 BTLA이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 CD160이다. 일부 실시 양태에서, TCR 보조 억제제는 CD37이다.

[0106] 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 공수용체 또는 보조 자극 단백질의 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인 둘 다를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 시토졸 도메인 및 막 횡단 도메인은 동일한 공수용체 또는 보조 자극제로부터 또는 상이한 공수용체 또는 보조 자극제로부터의 것이다. 일부 실시 양태에서, TAC는 T 세포를 표적화하거나 활성화하도록 직접 또는 간접적으로 작용하는 다른 폴리펩티드를 추가로 포함한다.

[0107] *링커, 연결기, 및 구성*

[0108] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산은 (1) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산은 (1) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이며, 여기서 순서는 5' 말단에서 3' 말단이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산은 (1) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이며, 여기서 순서는 3' 말단에서 5' 말단이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 핵산은 (1) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 핵산은 (1) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이며, 여기서 순서는 5' 말단에서 3' 말단이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 핵산은 (1) TCR 복합체에 결합하는 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드; (2) 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드; (3) 막 횡단 도메인 및 시토졸 도메인을 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드의 순서이며, 여기서 순서는 3' 말단에서 5' 말단이다.

[0109] 일부 실시 양태에서, 제1 핵산은 제1 폴리펩티드를 코딩하고, 제2 핵산은 제2 폴리펩티드를 코딩하고, 제3 핵산은 제3 폴리펩티드를 코딩한다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 및 제3 폴리펩티드는 직접 융합된다. 예를 들어, 표적 특이적 리간드 및 T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 둘 다 TCR 복합체에 결합하는 리간드에 융합된다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리펩티드, 제2 폴리펩티드, 및 제3 폴리펩티드는 적어도 하나의 링커에 의해 연결된다. 일부 실시 양태에서, 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드는 직접 융합되고, 링커에 의해 제3 폴리펩티드에 연결된다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리펩티드 및 제3 폴리펩티드는 직접 융합되고 링커에 의해 제1 폴리펩티드에 연결된다.

[0110] 일부 실시 양태에서, 링커는 펩티드 링커이다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 1 내지 40개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 1 내지 30개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 1 내지 15개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 1 내지 10개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 1 내지 6개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 30 내지 40개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 32 내지 36개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 5 내지 30개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 5개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 10개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 15개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 20개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 25개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 30개의 아미노산을 포함한다.

[0111] 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는 G_4S_3 링커(서열 번호 74)를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 펩티드 링커는

서열 번호 11, 12, 15, 16, 19, 20, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함한다.

[0112] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드를 TCR 복합체(예를 들어, UCHT1)에 결합하는 리간드에 연결하는 펩티드 링커는 이 단백질 도메인을 Tri-TAC에서 다른 링커와 구별하기 위한 연결기로 알려져 있다. 연결기는 임의의 크기이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 28을 포함하는 짧은 나선형이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 27에 의해 코딩된 짧은 나선형이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 30을 포함하는 긴 나선형이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 29에 의해 코딩된 긴 나선형이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 32을 포함하는 큰 도메인이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 특이적 리간드 사이의 연결기는 서열 번호 31에 의해 코딩된 큰 도메인이다.

[0113] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산은 리더 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 5, 47, 또는 49의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0114] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산은 리더 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 리더 서열은 서열 번호 6, 48, 또는 50의 아미노산 서열을 포함한다.

[0115] Tri-TAC는 본원에 개시된 바와 같이 (a) 표적 특이적 리간드, (b) TCR 복합체에 결합하는 리간드, 및 (c) TCR 신호 전달 도메인의 다양한 구성 및 조합으로 존재하는 것으로 고려된다.

[0116] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) CD3ε에 결합하는 단쇄 항체(scFv), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0117] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a)

DARPin, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0118] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0119] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0120] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0121] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) OKT3, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) F6A, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) L2K, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0122] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) CD3ε에 결합하는 단쇄 항체(scFv), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) UCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0123] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) UCHT1, 및 (c) CD4 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) DARPin, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0124] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) scFv, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0125] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) UCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) 표적 특이적 리간드, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) HER-2 특이적 DARPin, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0126] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) BCMA 특이적 ScFv, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0127] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) UCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) UCHT1(Y182T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) huUCHT1, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) huUCHT1(Y177T), 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) OKT3, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) F6A, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 (a) CD19 특이적 ScFv, (b) L2K, 및 (c) CD8 공수용체의 막 횡단 및 시토졸 도메인을 포함한다.

[0128] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC는 CD3 및 TCR을 막의 지질 뗏목 영역으로 끌어당기고, Lck를 TCR에 근접하게 하며, 이는 천연 MHC 결합과 유사하다.

[0129] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 항-HER-2 DARPin Tri-TAC(구성 1로도 지칭됨; 서열 번호 1 및 2)는 다음을 순서대로 포함한다:

[0130] i) 항-HER-2 Tri-TAC 리더 서열(분비 신호) (서열 번호 5 및 6)

[0131] ii) HER-2 항원에 특이적인 DARPin (서열 번호 7 및 8)

[0132] iii) Myc 태그 (서열 번호 9 및 10)

[0133] iv) 연결기 (서열 번호 11 및 12)

[0134] v) UCHT1 (서열 번호 13 및 14)

[0135] vi) 링커 (서열 번호 15 및 16)

[0136] vii) CD4 (서열 번호 17 및 18).

[0137] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 HER2-TAC이다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 65의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0138] 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 66의 아미노산 서열을 포함한다.

[0139] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 HER2-TAC이다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HER2-TAC는 서열 번호 67의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0140] 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 68의 아미노산 서열을 포함한다.

[0141] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 HER2-TAC이다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 75의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0142] 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일

부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER2-TAC는 서열 번호 76의 아미노산 서열을 포함한다.

[0143] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 BCMA-TAC이다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 75% 서열을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 55, 57, 59 또는 61과 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC 서열 번호 55, 57, 59 또는 61의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0144] 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA-TAC는 서열 번호 56, 58, 60 또는 62의 아미노산 서열을 포함한다.

[0145] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC는 CD19-TAC이다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 70%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 75%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 80%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 85%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 90%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 63의 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0146] 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 70% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 75% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 80% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 85% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64와 적어도 95% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19-TAC는 서열 번호 64의 아미노산 서열을 포함한다.

[0147] *폴리펩티드 및 벡터 구축물*

[0148] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 바와 같은 핵산 서열에 의해 코딩된 폴리펩티드가 본원에 개시된다. 또한, 본원에 개시된 바와 같은 핵산 서열을 포함하는 벡터가 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 벡터는 프로모터를 추가로 포함한다. 일부 실시 양태에서, 프로모터는 포유동물 세포에서 기능적이다. 특정 핵산 서열의 전사를 개시하는 DNA 영역인 프로모터는 당 업계에 잘 알려져 있다. "포유동물 세포에서 기능적인 프로모터"는 포유동물 세포에서 연관된 핵산 서열의 발현을 유도하는 프로모터를 지칭한다. 핵산 서열의 발현을 유도하는 프로모터는 핵산 서열에 "작동 가능하게 연결"된 것으로 언급된다.

[0149] 다양한 전달 벡터 및 발현 비히클을 사용하여 본원에 기재된 핵산을 세포에 도입한다.

[0150] 특정 실시 양태에서, 본원에서 벡터로도 지칭되는 벡터 구축물을 제공하기 위해 벡터에 포함된 폴리뉴클레오티

드가 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 본 개시 내용은 다음을 포함하는 벡터를 제공한다:

[0151] a. 표적 특이적 리간드를 코딩하는 제1 폴리뉴클레오티드;

[0152] b. TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드를 코딩하는 제2 폴리뉴클레오티드;

[0153] c. T 세포 수용체 신호 전달 도메인 폴리펩티드를 코딩하는 제3 폴리뉴클레오티드; 및

[0154] d. 포유동물 세포에서 기능적인 프로모터.

[0155] 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드의 표적은 HER-2, BCMA, 또는 CD19에 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2(erbB-2) 항원에 선택적으로 결합하는 DARPin이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 HER-2(erbB-2) 항원에 특이적으로 결합하는 DARPin이다. 일부 실시 양태에서, HER-2(erb-2)에 표적화된 DARPin은 서열 번호 7 또는 서열 번호 8을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA에 선택적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 BCMA에 특이적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, BCMA에 결합하는 scFv는 서열 번호 33 또는 서열 번호 34를 포함한다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19에 선택적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, 표적 특이적 리간드는 CD19에 특이적으로 결합하는 scFv이다. 일부 실시 양태에서, CD19에 결합하는 scFv는 서열 번호 35 또는 서열 번호 36을 포함한다.

[0156] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1, 인간화 UCHT1(huUCHT1), OKT3, F6A 또는 L2K이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1이고 서열 번호 13에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1이고 서열 번호 14를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 UCHT1 리간드는 Y182T 돌연변이(UCHT1(Y182T))를 갖고 서열 번호 71에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 UCHT1(Y182T)이고 서열 번호 72를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 인간화 UCHT1(huUCHT1), 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 인간화 UCHT1(huUCHT1)이고 서열 번호 43에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 huUCHT1이고 서열 번호 44를 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 huUCHT1 리간드는 Y177T 돌연변이를 갖고(huUCHT1(Y177T)) 서열 번호 45에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 huUCHT1(Y177T)이고 서열 번호 46을 포함한다.

[0157] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 OKT3, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 OKT3이고 서열 번호 21에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 연관된 단백질에 결합하는 리간드는 OKT3이고 서열 번호 22를 포함한다.

[0158] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 F6A, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 F6A이고 서열 번호 23에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 F6A이고 서열 번호 24를 포함한다.

[0159] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 L2K, 또는 이의 변이체이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 L2K이고 서열 번호 25에 의해 코딩된다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질에 결합하는 리간드는 L2K이고 서열 번호 26을 포함한다.

[0160] 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3이다. 일부 실시 양태에서, TCR 복합체와 관련된 단백질은 CD3ε이다.

[0161] 일부 실시 양태에서, TCR 신호 전달 도메인 폴리펩티드는 TCR 공수용체의 막 횡단 도메인 및/또는 시토졸 도메인을 포함한다. 일부 실시 양태에서, TCR 공수용체는 CD4, CD8, LAG3, 또는 이들의 키메라 변이체이다.

[0162] 일부 실시 양태에서, 제1 폴리뉴클레오티드 및 제3 폴리뉴클레오티드는 제2 폴리뉴클레오티드에 융합되고 코딩 서열은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시 양태에서, 제2 폴리뉴클레오티드 및 제3 폴리뉴클레오티드는 제1 폴리뉴클레오티드에 융합되고 코딩 서열은 프로모터에 작동 가능하게 연결된다. 일부 실시 양태에서, 벡터는 T 세포와 같은 포유동물 세포에서의 발현을 위해 설계된다. 일부 실시 양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 일부 실시 양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터이다.

[0163] 일부 실시 양태에서, 유용한 벡터는 렌티바이러스, 뮤린 줄기세포 바이러스(MSCV: Murine Stem Cell Viruse), 폭스바이러스, 온코레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노 관련 바이러스로부터 유래된 벡터를 포함한다. 유용한 다른 전달 벡터는 단순 포진 바이러스, 트랜스포존, 백시니아 바이러스, 인간 유두종 바이러스, 유인원 면역 결핍 바이러스, HTLV, 인간 거품 형성 바이러스 및 이들의 변이체로부터 유래된 벡터를 포함한다. 유용한 추가 벡터는 스푸마바이러스, 포유동물 B형 레트로바이러스, 포유동물 C형 레트로바이러스, 조류 C형 레트로바이러스, 포유동물 D형 레트로바이러스 및 HTLV/BLV 형 레트로바이러스로부터 유래된 벡터를 포함한다. 개시된 조성물 및 방법에 유용한 렌티바이러스 벡터의 한 예는 pCCL4 벡터이다.

[0164] 일부 실시 양태에서, 핵산은 재조합 또는 조작된 핵산이다. 일부 실시 양태에서, 제1, 제2 및/또는 제3 폴리뉴클레오티드는 재조합 또는 조작된 폴리뉴클레오티드이다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드는 코딩된 폴리펩티드의 기능 및/또는 T 세포-항원 커플러의 기능, 활성 및/또는 발현을 최적화하기 위해 변형되거나 돌연변이된다. 일부 실시 양태에서, 핵산은 폴리펩티드를 코딩한다.

[0165] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 벡터 서열 및 폴리펩티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 서열에 변형이 이루어진다. 변형에는 뉴클레오티드 또는 아미노산의 치환, 삽입 또는 결실 또는 뉴클레오티드 또는 아미노산의 상대적 위치 또는 순서의 변경이 포함된다.

[0166] **T 세포에서의 발현**

[0167] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 핵산 서열, 또는 본원에 개시된 벡터를 포함하는 조작된 T 세포가 본원에 개시된다. 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 Tri-TAC를 발현하도록 조작된 인간 T 세포가 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 본원에 개시된 Tri-TAC를 발현한다. T 세포-항원 커플러 또는 Tri-TAC를 포함하는 벡터로 형질 도입되거나 형질 감염된 T 세포가 본원에서 추가로 개시된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 단리된 T 세포이다.

[0168] 일부 실시 양태에서, Tri-TAC를 발현하도록 조작된 인간 T 세포는 시험관 내에서 기존의 CAR과 동등한 기능성을 나타낸다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC로 조작된 T 세포는 시험관 내에서 기존의 CAR보다 우수한 기능성을 나타낸다. 일부 실시 양태에서, 종래의 CAR에 비해 향상된 안전성을 나타내는 Tri-TAC로 조작된 인간 T 세포가 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, Tri-TAC를 발현하도록 조작된 인간 T 세포는 종래의 CAR에 비해 향상된 안전성을 나타낸다.

[0169] 일부 실시 양태에서, T 세포는 혈액(예를 들어, 말초 혈액 단핵 세포), 골수, 흉선 조직, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위의 조직, 비장 조직 또는 종양을 포함하는, 그러나 이에 제한되지 않는 다수의 공급원으로부터 수득된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 자가 유래 T 세포이다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 T 세포의 세포주로부터 수득된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 공여자(동종 이계 T 세포)로부터 수득된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 배아 또는 성체 줄기세포의 분화에 의해 또는 유도된 만능 줄기세포로부터 수득된다. 일부 실시 양태에서, T 세포의 공급원에 관계없이, T 세포는 내인성 TCR의 발현이 결여되고/거나 MHC/HLA 분자(보편적인 공여자 T 세포)의 발현이 영구적으로 또는 일시적으로 결여되도록 변형된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 대상체에 대해 자가 유래이다. 일부 실시 양태에서, 세포는 대상체에 대해 동종 이계, 동계, 또는 이종이다.

[0170] 일부 실시 양태에서, 일단 수득되면, T 세포는 시험관 내에서 선택적으로 농축된다. 일부 실시 양태에서, 세포 집단은 양성 또는 음성 선별에 의해 농축된다. 추가로, T 세포는 선택적으로 냉동 또는 냉동 보존된 후 나중에 해동된다.

[0171] 일부 실시 양태에서, T 세포는 Tri-TAC를 T 세포에 도입하기 전 또는 후에 활성화 및/또는 확장된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 CD3/TCR 복합체 관련 신호를 자극하는 작용제 및 T 세포 표면상의 보조 자극 분자를 자극하는 리간드가 부착된 표면과의 접촉에 의해 확장된다. 일부 실시 양태에서, T 세포는 CD3/TCR 복합체 신호 전달 및 보조 자극 분자 신호 전달을 자극하는 하나 이상의 가용성 작용제와의 접촉에 의해 확장된다.

[0172] 일부 실시 양태에서, T 세포는 핵산 서열로 형질 도입되거나 형질 감염된다. 형질 도입 또는 형질 감염된 T 세포는 형질 감염 또는 형질 도입된 핵산 서열에 의해 코딩된 단백질을 발현한다. 핵산은 물리적, 화학적 또는 생물학적 수단에 의해 세포에 도입될 수 있다. 물리적 수단은 미세 주입, 전기 천공, 입자 충격, 리포펙션 및 인산칼슘 침전을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 생물학적 수단에는 DNA 및 RNA 벡터의 사용이 포함된다.

[0173] 레트로바이러스 벡터를 포함하는 바이러스 벡터는 핵산을 T 세포로 도입하고 발현하는데 사용된다. 바이러스 벡터에는 렌티바이러스, 뮤린 줄기세포 바이러스(MSCV), 폭스바이러스, 단순 포진 바이러스 I, 아데노바이러스 및

아데노 관련 바이러스에서 유래된 벡터가 포함된다. 벡터는 T 세포에서 형질 도입된 핵산 분자의 발현을 유도하는 프로모터(예를 들어, CMV 프로모터, eF1a 프로모터, 또는 MSCV 프로모터)를 선택적으로 포함한다.

[0174] T 세포에서 형질 도입된 핵산 서열 및/또는 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드의 존재 및/또는 발현을 확인하기 위해 임의의 적합한 분석이 사용된다. 분석에는 서던 및 노던 블롯팅, RT-PCR 및 PCR, ELISA, 웨스턴 블롯팅, 및 유세포 분석이 포함되지만 이에 제한되지는 않는다.

[0175] TAC를 발현하는 T 세포는 TAC를 발현하지 않는 T 세포와 비교하고/거나 종래의 CAR을 발현하는 T 세포와 비교하여 항원의 존재하에 T 세포 활성화가 증가된다. 증가된 T 세포 활성화는 증가된 종양 세포주 사멸, 증가된 사이토카인 생산, 증가된 세포 분해, 증가된 탈과립화 및/또는 CD107α, IFNɣ, IL2 또는 TNFα와 같은 활성화 마커의 증가된 발현을 포함하지만 이에 제한되지 않는 수많은 방법에 의해 확인된다. 일부 실시 양태에서, 증가는 개별 세포 또는 세포 집단에서 측정된다.

[0176] 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "증가된" 또는 "증가하는"은 TAC 세포를 발현하지 않는 T 세포 또는 T 세포 집단과 비교하고/거나 종래의 CAR을 발현하는 T 세포 또는 T 세포 집단과 비교하여 TAC 세포를 발현하는 세포 또는 T 세포 집단에서 적어도 1%, 2%, 5%, 10%, 25%, 50%, 100% 또는 200% 증가를 지칭한다.

[0177] **약학 조성물**

[0178] 특정 실시 양태에서, 본원에 개시된 조작된 T 세포(TAC로 형질 도입되고/거나 TAC를 발현함), 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학 조성물이 개시된다. 약학적으로 가능한 담체는 중성 완충 식염수, 인산 완충 식염수 등과 같은 완충제; 글루코오스, 만노오스, 수크로오스 또는 덱스트란, 만니톨과 같은 탄수화물; 단백질; 폴리펩티드 또는 글리신과 같은 아미노산; 항산화제; EDTA 또는 글루타티온과 같은 킬레이트제; 보조제(예를 들어, 수산화알루미늄); 또는 방부제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, 조작된 T 세포는 정맥 내 투여용으로 제제화된다.

[0179] 약학 조성물은 치료(또는 예방)될 질환에 적절한 방식으로 투여된다. 투여량과 투여 빈도는 환자의 상태, 및 환자의 질환의 유형 및 중증도와 같은 요인에 의해 결정되지만, 적절한 투여량은 임상 시험에 의해 결정된다. "면역학적 유효량", "항종양 유효량", "종양 억제 유효량" 또는 "치료량"이 표시될 때, 투여되는 본 발명의 조성물의 정확한 양은 연령, 체중, 종양 크기, 감염 또는 전이의 정도, 및 환자(대상체)의 상태의 개인차를 고려하여 의사에 의해 결정된다.

[0180] 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 변형된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 체중 kg당 10^1 내지 10^{15}개 세포, 체중 kg당, 10^4 내지 10^9개 세포, 선택적으로 체중 kg당 10^5 내지 10^8개 세포, 체중 kg당 10^6 내지 10^7개 세포, 또는 체중 kg당 10^5 내지 10^6개 세포의 투여량(해당 범위 내의 모든 정수 값 포함)으로 투여된다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 변형된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 체중 kg당 10^1개 세포 초과의 투여량으로 투여된다. 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 변형된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 체중 kg당 10^{15}개 세포 미만의 투여량으로 투여된다.

[0181] 일부 실시 양태에서, 본원에 기재된 변형된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 0.5 x10^6개 세포, 2 x10^6개 세포, 4 x10^6개 세포, 5 x10^6개 세포, 1.2 x10^7개 세포, 2 x10^7개 세포, 5 x10^7개 세포, 2 x10^8개 세포, 5 x10^8개 세포, 2 x10^9개 세포, 0.5-2000 x10^6개 세포, 0.5-2 x10^6개 세포, 0.5-2 x10^7개 세포, 0.5-2 x10^8개 세포, 또는 0.5-2 x10^9 개 세포(해당 범위 내의 모든 정수 값 포함)의 투여량으로 투여된다.

[0182] 일부 실시 양태에서, T 세포 조성물은 이러한 투여량으로 여러 번 투여된다. 일부 실시 양태에서, 투여량은 1회 또는 수회, 예를 들어 매일, 매주, 격주, 또는 매월, 매시간 투여되거나, 치료되는 암의 재발, 악화 또는 진행 시에 투여된다. 일부 실시 양태에서, 세포는 면역 요법에서 일반적으로 알려진 주입 기술을 사용하여 투여된다(예를 들어, 문헌[Rosenberg et al., New Eng. J. of Med. 319:1676, 1988] 참조).

[0183] 약학 조성물은, 예를 들어, 내독소, 마이코플라스마, 복제 적격 렌티바이러스(RCL), p24, VSV-G 핵산, HIV gag, 잔류 항-CD3/항-CD28 코팅된 비드, 마우스 항체, 혼주 인간 혈청, 소 혈청 알부민, 소 혈청, 배양 배지 성분, 벡터 포장 세포 또는 플라스미드 성분, 박테리아, 진균류, 마이코플라스마, IL-2 및 IL-7로 이루어진 군으로부터 선택된, 오염물이 실질적으로 없다. 예를 들어 오염 물질의 검출 가능한 수준이 없다.

[0184] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 조작된 T 세포를 대상체에게 투여한 후 혈액을 다시 채취하고(또는 성분 채집술을 수행하고), 그로부터의 T 세포를 활성화하고 조작된 T 세포로 환자에게 재주입한다. 일부 실시 양태에서, 이 과정은 몇 주마다 여러 번 수행된다. T 세포는 10 cc에서 400 cc까지의 채혈로부터 활성화된다. T 세포는 20 cc, 30 cc, 40 cc, 50 cc, 60 cc, 70 cc, 80 cc, 90 cc, 또는 100 cc의 채혈로부터 활성화된다.

[0185] 변형/조작된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 에어로졸 흡입, 주사, 주입, 섭취, 수혈, 또는 이식(implantation 또는 transplantation)을 포함하는, 그러나 이에 제한되지 않는 방법에 의해 투여된다. 변형된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 경동맥, 피하, 피부 내, 종양 내, 결절 내, 척수 내, 근육 내로, 정맥 내(i.v.) 주사에 의해, 정맥 내(i.v.) 주입에 의해, 또는 복강 내로 대상체에게 투여된다. 변형/조작된 T 세포 및/또는 이의 약학 조성물은 피부 내 또는 피하 주사에 의해 환자에게 투여된다. 변형/조작된 T 세포 및/또는 이의 약학 조성물은 i.v. 주사에 의해 투여된다. 변형/조작된 T 세포 및/또는 이의 약학 조성물은 종양, 림프절, 또는 감염 부위에 직접 주사된다.

[0186] 변형/조작된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 약 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 35 mL, 40 mL, 45 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL, 100 mL, 110 mL, 120 mL, 130 mL, 140 mL, 150 mL, 200 mL, 300 mL, 400 mL, 또는 500 mL의 부피로 투여된다.

[0187] 변형/조작된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 최대 약 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 35 mL, 40 mL, 45 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL, 100 mL, 110 mL, 120 mL, 130 mL, 140 mL, 150 mL, 200 mL, 300 mL, 400 mL, 또는 500 mL 초과의 부피로 투여된다.

[0188] 변형/조작된 T 세포 및/또는 약학 조성물은 적어도 약 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL, 30 mL, 35 mL, 40 mL, 45 mL, 50 mL, 60 mL, 70 mL, 80 mL, 90 mL, 100 mL, 110 mL, 120 mL, 130 mL, 140 mL, 150 mL, 200 mL, 300 mL, 400 mL, 또는 500 mL의 부피로 투여된다.

[0189] 약학 조성물은 대상체에게 투여되는 약학적으로 허용 가능한 조성물의 제조를 위한 공지된 방법 그 자체로 제조되어, 유효량의 T 세포가 약학적으로 허용 가능한 담체와 혼합물로 조합된다. 적합한 담체는 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences (Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., USA, 2000]에 기재되어있다. 이를 기초로, 조성물은, 독점적인 것은 아니지만, 하나 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제와 결합되고 생리학적 유체와 함께 적절한 pH 및 등삼투압을 갖는 완충 용액에 함유된 물질의 용액을 포함한다.

[0190] 적합한 약학적으로 허용 가능한 담체는 약학 조성물의 생물학적 활성의 유효성을 방해하지 않는 본질적으로 화학적으로 불활성이고 비독성인 조성물을 포함한다. 적합한 약학적 담체의 예는 물, 식염수, 글리세롤 용액, N-(1(2,3-디올레일옥시)프로필)N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTMA), 디올레일포스포티딜-에탄올아민(DOPE) 및 리포좀을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, 이러한 조성물은 환자에게 직접 투여하기 위한 형태를 제공하기 위해 적절한 양의 담체와 함께 치료 유효량의 화합물을 함유한다.

[0191] 약학 조성물은 동결 건조된 분말 또는 수성 또는 비수성 멸균 주사 용액 또는 현탁액을 제한 없이 포함하며, 이는 조성물을 의도된 수여자의 조직 또는 혈액과 실질적으로 적합하도록 만드는 항산화제, 완충제, 세균 발육 저지제 및 용질을 추가로 함유할 수 있다. 이러한 조성물에 존재할 수 있는 다른 성분은 예를 들어 물, 계면 활성제(예컨대, Tween), 알코올, 폴리올, 글리세린 및 식물성 오일을 포함한다. 즉석 주사 용액 및 현탁액은 멸균 분말, 과립, 정제, 또는 농축 용액 또는 현탁액으로 제조할 수 있다.

[0192] 본원에 개시된 약학 조성물은 다양한 형태로 제제화되고 다수의 상이한 수단에 의해 투여된다. 약학 제제는 필요에 따라 통상적으로 허용 가능한 담체, 보조제, 및 비히클을 함유하는 제제로 경구, 직장 또는 비경구로 투여된다. 본원에 사용되는 바와 같이 용어 "비경구"는 피하, 정맥 내, 근육 내, 또는 흉골 내 주사 및 주입 기술을 포함한다. 투여는 동맥 내, 심장 내, 뇌실 내, 피부 내, 십이지장 내, 척수 내, 근육 내, 골 내, 복강 내, 척수강 내, 혈관 내, 정맥 내, 유리체 내, 경막 외 및 피하를 포함하는 주사 또는 주입, 흡입 및 경피, 경점막, 설하, 협측 및 국소(표피(epicutaneous), 피부, 관장, 점안액, 점이액, 비강, 질 포함) 투여를 포함한다. 일부 예시적인 실시 양태에서, 투여 경로는 근육 내, 정맥 내, 피하, 또는 복강 내 주사와 같은 주사를 통해서이다.

[0193] 액체 제제는 경구 제제, 정맥 내 제제, 비강 내 제제, 안구 제제, 귀 제제, 에어로졸 등을 포함한다. 특정 실시 양태에서, 다양한 제제의 조합이 투여된다. 특정 실시 양태에서 조성물은 지연 방출 프로파일을 위해 제제화된다.

[0194] **치료 및 사용 방법**

[0195] 특정 실시 양태에서, 암 치료를 필요로 하는 개체에서 암 치료에 있어 본원에 개시된 Tri-TAC의 사용 방법이 개시된다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC의 표적 특이적 리간드는 종양 세포 상의 종양 항원 또는 종양 관련 항원에 결합한다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC의 표적 특이적 리간드는 종양 세포 상의 종양 항원 또는 종양 관련 항원에 선택적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC의 표적 특이적 리간드는 종양 세포 상의 종양 항원 또는 종양 관련 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시 양태에서, 표적 항원은 종양 항원이다. 종양 항원의 예는 CD19, HER-2(erbB-2), B 세포 성숙 항원(BCMA), 알파 태아 단백질(AFP), 암배아 항원(CEA), CA-125, MUC-1, 상피 종양 항원(ETA), 티로시나제, 흑색종 관련 항원(MAGE), 전립선 특이 항원(PSA), 신경 교종 관련 항원, β-인간 융모성 성선 자극 호르몬, 티로글로불린, RAGE-1, MN-CA IX, 인간 텔로머라제 역전사 효소, RU1, RU2(AS), 장 카복실 에스테라제, mut hsp70-2, M-CSF, 프로스타제, PAP, NY-ESO-1, LAGE-1a, p53, 프로스테인, PSMA, 서바이빈 및 텔로머라제, 전립선 암종 종양 항원-1(PCTA-1), ELF2M, 호중구 엘라스타제, CD22, 인슐린 성장 인자(IGF)-I, IGF-II, IGF-I 수용체 및 메소텔린을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0196] 특정 실시 양태에서, 표적 항원을 발현하는 암 치료를 필요로 하는 개체에서 표적 항원을 발현하는 암을 치료하는 방법으로서, 본원에 개시된 조작된 T 세포를 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 본원에 개시된다. 일부 실시 양태에서, 표적 항원은 CD19이다. 일부 실시 양태에서, CD19를 발현하는 암 치료를 필요로 하는 개체에서 CD19를 발현하는 암을 치료하는 방법은 CD19 표적화 리간드를 포함하는 TAC를 포함하는 조작된 T 세포를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 양태에서, CD19 표적화 리간드를 포함하는 TAC에 의해 치료되는 암의 예는 B 세포 악성 종양을 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 일부 실시 양태에서, CD19 표적화 리간드를 포함하는 TAC에 의해 치료되는 암의 예는 B 세포 림프종, 급성 림프모구성 백혈병(ALL) 및 만성 림프구성 백혈병(CLL)을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, CD19 표적화 리간드를 포함하는 TAC에 의해 치료되는 암의 예는 비호지킨 림프종(NHL)을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0197] 일부 실시 양태에서, 표적 항원은 HER-2이다. 일부 실시 양태에서, 암세포가 HER-2를 발현하는 암 치료를 필요로 하는 개체에서 암세포가 HER-2를 발현하는 암을 치료하는 방법은 HER-2 표적화 리간드를 포함하는 TAC를 포함하는 조작된 T 세포를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 양태에서, HER-2 표적화 리간드를 포함하는 TAC에 의해 치료되는 암의 예는 유방암, 방광암, 췌장암, 난소암, 및 위암을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0198] 일부 실시 양태에서, 표적 항원은 BCMA이다. 일부 실시 양태에서, 암세포가 BCMA를 발현하는 암 치료를 필요로 하는 개체에서 암세포가 BCMA를 발현하는 암을 치료하는 방법은 BCMA-2 표적화 리간드를 포함하는 TAC를 포함하는 조작된 T 세포를 개체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 양태에서, BCMA 표적화 리간드를 포함하는 TAC에 의해 치료되는 암의 예는 백혈병, 림프종, 및 다발성 골수종을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0199] 추가로 암 치료를 필요로 하는 개체에서 암을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어 본원에 개시된 조작된 T 세포의 용도가 본원에 개시된다. 또한, 변형 및 비변형 세포를 포함하는, 또는 비변형 세포가 있거나 없는 변형된 세포의 상이한 집단을 포함하는 T 세포의 혼합물의 용도가 본원에 개시된다. 당업자는 변형된 T 세포의 치료량이 본질적으로 균질할 필요가 없다는 것을 이해할 것이다.

[0200] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 조작된 T 세포는 조합 요법의 일부이다. 일부 실시 양태에서, 본원의 개시 내용의 치료 효과는 여러 번 평가된다. 일부 실시 양태에서, 환자는 본원에 개시된 치료에 대한 반응을 기준으로 계층화된다. 일부 실시 양태에서, 치료 효과는 시험 진입을 결정한다.

[0201] 일부 실시 양태에서, 본원에 개시된 TAC 중 어느 하나를 포함하는 조작된 T 세포로 치료되는 암은 임의의 형태의 신생물 질환을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 치료되는 암의 예는 유방암, 폐암 및 백혈병, 예를 들어 혼합 계통 백혈병(MLL: mixed lineage leukemia), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 급성 림프모구성 백혈병(ALL)을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시 양태에서, 치료되는 암의 예는 거대 B 세포 림프종, 미만성 거대 B 세포 림프종, 원발성 종격동 B 세포 림프종, 고등급 B 세포 림프종, 또는 여포성 림프종으로부터 발생하는 거대 B 세포 림프종을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 다른 암에는 암종, 모세포종, 흑색 종, 육종, 혈액암, 림프성 악성 종양, 양성 및 악성 종양, 악성 종양이 포함된다. 일부 실시 양태에서, 암은 비고형 종양 또는 고형 종양을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 치료되는 암은 혈관화되지 않은 종양, 또는 아직 실질적으로 혈관화되지 않은 종양뿐만 아니라 혈관화된 종양을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 고형암이거나 고형 종양을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 액체 암이거나 액체 종양을 포함한다. 일부 실시 양태에서, 암은 폐암, 유방암,

결장암, 다발성 골수종, 교모세포종, 위장암, 난소암, 위암, 결장 직장암, 요로 상피암, 자궁내막암, 또는 흑색종이다. 일부 실시 양태에서, 암은 폐암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 유방암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 결장암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 다발성 골수종이다. 일부 실시 양태에서, 암은 교모세포종이다. 일부 실시 양태에서, 암은 위장암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 난소암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 위암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 결장직장암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 요로 상피암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 자궁내막암이다. 일부 실시 양태에서, 암은 흑색종이다.

[0202] [표 1]

서열 표

서열 번호	설명	뉴클레오티드/아미노산
서열 번호 1	Tri TAC 구성 1	뉴클레오티드
서열 번호 2	Tri TAC 구성 1	아미노산
서열 번호 3	Tri TAC 구성 2	뉴클레오티드
서열 번호 4	Tri TAC 구성 2	아미노산
서열 번호 5	muIgG 리더 (분비 신호)	뉴클레오티드

[0203]

서열 번호 6	muIgG 리더 (분비 신호)	아미노산
서열 번호 7	Her2 항원에 특이적인 DARPin	뉴클레오티드
서열 번호 8	Her2 항원에 특이적인 DARPin	아미노산
서열 번호 9	Myc 태그	뉴클레오티드
서열 번호 10	Myc 태그	아미노산
서열 번호 11	링커 1	뉴클레오티드
서열 번호 12	링커 1	아미노산
서열 번호 13	UCHT1[1]	뉴클레오티드
서열 번호 14	UCHT1[2]	아미노산
서열 번호 15	링커 2	뉴클레오티드
서열 번호 16	링커 2	아미노산
서열 번호 17	CD4 도메인[3]	뉴클레오티드
서열 번호 18	CD4 도메인[4]	아미노산
서열 번호 19	CD4 기반 링커	뉴클레오티드
서열 번호 20	CD4 기반 링커	아미노산
서열 번호 21	OKT3	뉴클레오티드
서열 번호 22	OKT3	아미노산
서열 번호 23	F6A	뉴클레오티드
서열 번호 24	F6A	아미노산
서열 번호 25	L2K	뉴클레오티드
서열 번호 26	L2K	아미노산
서열 번호 27	짧은 나선형 연결기	뉴클레오티드
서열 번호 28	짧은 나선형 연결기	아미노산
서열 번호 29	긴 나선형 연결기	뉴클레오티드
서열 번호 30	긴 나선형 연결기	아미노산
서열 번호 31	큰 도메인 연결기	뉴클레오티드
서열 번호 32	큰 도메인 연결기	아미노산
서열 번호 33	BCMA 항원에 특이적인 ScFv	뉴클레오티드
서열 번호 34	BCMA 항원에 특이적인 ScFv	아미노산
서열 번호 35	CD19 항원에 특이적인 ScFv	뉴클레오티드
서열 번호 36	CD19 항원에 특이적인 ScFv	아미노산
서열 번호 37	CD8α 도메인	뉴클레오티드
서열 번호 38	CD8α 도메인	아미노산
서열 번호 39	CD8α+R(β) 도메인	뉴클레오티드
서열 번호 40	CD8α+R(β) 도메인	아미노산
서열 번호 41	CD8 α +Lck 도메인	뉴클레오티드
서열 번호 42	CD8 α +Lck 도메인	아미노산
서열 번호 43	huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 44	huUCHT1	아미노산
서열 번호 45	huUCHT1 (Y177T)	뉴클레오티드
서열 번호 46	huUCHT1 (Y177T)	아미노산
서열 번호 47	huIgG	뉴클레오티드
서열 번호 48	huIgG	아미노산
서열 번호 49	huCD8a	뉴클레오티드
서열 번호 50	huCD8a	아미노산
서열 번호 51	3625 scFv BCMA Vh-Vl	뉴클레오티드
서열 번호 52	3625 scFv BCMA Vh-Vl	아미노산
서열 번호 53	3625 scFv BCMA Vl-Vh	뉴클레오티드
서열 번호 54	3625 scFv BCMA Vl-Vh	아미노산
서열 번호 55	3625 TAC 나선형 Vh-Vl huUCHT1	뉴클레오티드

[0204]

서열 번호 56	3625 TAC 나선형 Vh-Vl huUCHT1	아미노산
서열 번호 57	3625 TAC 나선형 Vl-Vh huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 58	3625 TAC 나선형 Vl-Vh huUCHT1	아미노산
서열 번호 59	3625 TAC G4S Vh-Vl huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 60	3625 TAC G4S Vh-Vl huUCHT1	아미노산
서열 번호 61	3625 TAC G4S VL-VH huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 62	3625 TAC G4S VL-VH huUCHT1	아미노산
서열 번호 63	CD19-TAC	뉴클레오티드
서열 번호 64	CD19-TAC	아미노산
서열 번호 65	huIgG Her2 TAC huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 66	huIgG Her2 TAC huUCHT1	아미노산
서열 번호 67	CD8a Her2 TAC huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 68	CD8a Her2 TAC huUCHT1	아미노산
서열 번호 69	가요성 연결기	아미노산
서열 번호 70	가요성 연결기	뉴클레오티드
서열 번호 71	UCHT1 (Y182T)	뉴클레오티드
서열 번호 72	UCHT1 (Y182T)	아미노산
서열 번호 73	G4S 가요성 링커	아미노산
서열 번호 74	G4S3 링커	아미노산
서열 번호 75	muIgG Her2 TAC huUCHT1	뉴클레오티드
서열 번호 76	muIgG Her2 TAC huUCHT1	아미노산
서열 번호 77	G4S3 링커	뉴클레오티드

[1] 경쇄, 뉴클레오티드 1-324; 링커, 뉴클레오티드 325-387; 중쇄, 뉴클레오티드 388-750
[2] 경쇄, 아미노산 1-108; 링커, 아미노산 109-128; 중쇄, 아미노산 129-250
[3] 세포 외 링커, 뉴클레오티드 1-66; 막 횡단 도메인, 뉴클레오티드 67-132; 시토졸 도메인, 뉴클레오티드 133-254
[4] 세포 외 링커, 아미노산 1-22; 막 횡단 도메인, 아미노산 23-44; 시토졸 도메인, 아미노산 45-84

[0205]

[0206] **실시예**

[0207] 하기 실시예는 본 발명의 다양한 실시 양태를 예시하기 위해 제공되며 어떠한 방식으로도 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본원에 기재된 방법과 함께 본 실시예는 현재 바람직한 실시 양태를 대표하고, 예시적이며, 본 발명의 범위에 대한 제한으로서 의도되지 않는다. 당업자는 청구항의 범위에 의해 정의된 바와 같이 본 발명의 취지 내에 포함되는 그 안의 변경 및 다른 용도를 생각해 낼 것이다.

[0208] **실시예 1. Tri-TAC 기술의 특성화**

[0209] Tri-TAC 기술의 개요는 [도 1a] 내지 [도 1c]에 제공한다.

[0210] [도 1a]는 상이한 수용체와 이들의 관련 단백질 파트너의 공동 조립에 기초한 CD8 T 세포 활성화의 예를 보여준다. 처음에는 주요 조직 적합성 복합체 I이 항원(나선)을 제시하고 있다. 이는 항원에 결합할 수 있는 T 세포 수용체(TCR) 복합체에 의해 인식된다. TCR 복합체는 여러 개의 개별 서브유닛을 포함한다. α/β 도메인은 MHC-I에 제시된 항원과 직접 상호 작용할 수 있다. 그런 다음 α/β 도메인은 여러 다른 도메인(ε, ɣ, δ 및 ζ)과 상호 작용하며, 이들 모두는 다양한 세포 내 활성화 도메인을 통해 T 세포 활성화에 참여한다. TCR 복합체는 CD8 공수용체와 동시에 MHC-I와 상호 작용한다. CD8 공수용체는 항원 독립적인 방식으로 MHC-1에 결합한다. CD8은 TCR 수용체 복합체 활성화에 중요한 단백질 키나아제인 Lck와 직접 상호 작용한다. CD8과 Lck 상호 작용은 또한 다른 관련 신호 전달 모이어티(어두운 구체)를 구성하고 캡슐화하는 것으로 가정된 지질 뗏목(막 부분) 마이크로 도메인과의 관련성을 보장한다. 그런 다음 이후 활성화 단계는 CD28 동원으로 이어진다. 이 상호 작용 캐스케이드가 동시에 여러 번 발생하면 T 세포가 활성화되고 세포 독성 효과를 발휘할 수 있다.

[0211] [도 1b]는 키메라 항원 수용체(CAR)의 개요를 제공한다. CAR은 단일의 합성적으로 조작된 분자에서 CD3ζ 및 CD28과 같은 여러 주요 활성화 도메인을 결합하여 T 세포 활성화의 복잡한 메커니즘을 재현하고자 한다. 그런 다음 CAR은 특이적 결합 도메인을 사용하여 선택한 항원과 직접 상호 작용한다. 여기에 도시된 것은 안키린 반복 단백질(DARPin)이다. 동시에 발생하는 이러한 여러 상호 작용이 T 세포 활성화로 이어진다고 생각된다.

[0212] [도 1c]는 천연 활성화 과정을 모방하는 Tri-TAC 기술의 개요이다. Tri-TAC는 MHC 제한받지 않는 표적화를 유지하면서 TCR을 통한 천연 신호 전달을 더 잘 재현하기 위해 개발되었다. TCR 및 T 세포 공수용체(CD4 또는 CD8)에 의한 MHC의 연결 후에 T 세포 활성화가 발생하며, 이는 동시에 MHC 분자 내의 보존된 영역에 결합한다. 공수용체는 TCR 신호 복합체 형성에 특히 중요한 막 마이크로 도메인인 "지질 뗏목" 내에 위치한다. TCR 활성화 복합체의 정확한 마이크로 도메인 국소화를 보장하는 것 외에도, 이러한 공수용체는 T 세포 활성화에 중요한 단백질 키나아제인 Lck에 직접 결합한다. 종래의 키메라 수용체 또는 양기능성 단백질 중 어느 것도 공수용체 분자

또는 Lck에 관여하지 않는다. 각각 지질 뗏목에 국소화되고 Lck에 결합하는 CD4 공수용체의 막 횡단 및 세포 내 영역이 CD3에 결합하는 단쇄 항체(UCHT1; 서열 번호 13, 14 및 이들의 동족체)에 융합된 분자가 생성되었다. 이 구조물은 CD3 분자와 TCR을 지질 뗏목의 영역으로 끌어당기고 Lck를 TCR의 근접으로 가져 오도록 설계되며, 이는 천연 MHC 결합과 유사하다. 이 수용체를 표적화하기 위해, 설계된 안키린 반복체(DARPin)를 CD4-UCHT1 키메라에 연결하여 삼기능성 T 세포-항원 커플러(Tri-TAC)를 생성하였다. 이 실시예에서 DARPin은 원종양 유전자인 HER-2(erbB-2)에 특이적이었다.

[0213] 여러 Tri-TAC 구성이 가능하다(도 2a 및 도 2b). 구성 1(도 2a)에서 항원 결합 도메인은 N-말단에 위치하며, CD3 리간드 결합 도메인에 연결된 후 공수용체 도메인에 연결된다. 구성 2(도 2b)에서 CD3 리간드 결합 도메인은 N-말단에 위치하며, 항원 결합 도메인에 연결되고 이는 차례로 공수용체 도메인에 연결된다.

[0214] 여러 부류의 리간드 결합 도메인이 Tri-TAC 분자에 통합될 수 있다(도 3a 내지 도 3d). 본원의 예는 구성 1 Tri-TAC(도 3a), HER-2 특이적 DARPin을 보유하는 Tri-TAC(도 3b), CD19 특이적 scFv를 보유하는 Tri-TAC(도 3c), 및 BCMA 특이적 scFv를 보유하는 Tri-TAC(도 3d)의 일반적인 개략도를 보여준다.

[0215] [도 4a] 내지 [도 4d]는 HER-2 특이적 DARPin을 보유하는 Tri-TAC의 기능성을 예시한다. 인간 T 세포는 본원에 개시된 Tri-TAC 또는 동일한 DARPin을 갖는 기존의 CAR을 발현하도록 조작하였다. Tri-TAC로 조작된 T 세포가 기존의 CAR과 적어도 동등한 기능성을 나타낸다는 것이 모든 측면에서 확인되었다. 흥미롭게도 2가지 매개 변수(TNF-α 생산 및 CD107a 동원)와 관련하여 Tri-TAC가 일부 상황에서 기존 CAR보다 활성이 더 큰 것으로 관찰되었다.

[0216] [도 4a]는 항 HER-2 DARPin CAR, 및 대조군 T 세포와 비교한 항-HER-2 DARPin Tri-TAC의 표면 발현을 보여준다. 키메라 수용체는 재조합 HER-2와의 인큐베이션에 의해 검출하였다. 항-HER-2 DARPin Tri-TAC는 조작된 T 세포의 표면에서 잘 발현되었다. [도 4b]는 조작된 T 세포 배양물의 성장을 보여준다. T 세포를 항-CD3/항-CD28 Dynabeads로 활성화하고 Tri-TAC, CAR을 코딩하거나 수용체를 코딩하지 않는(대조군) 렌티바이러스로 조작하였다. 2주 후, CAR 및 대조군 배양물은 유사한 수로 성장한 반면 Tri-TAC 배양물은 약간 더 느리게 성장하였다. [도 4c] 및 [도 4d]는 조작된 T 세포의 기능적 속성을 보여준다. HER-2 DARPin을 보유하는 Tri-TAC 또는 CAR을 발현하도록 조작된 T 세포를 플레이트-결합된 항원으로 자극하였다. Tri-TAC 및 CAR을 발현하도록 조작된 T 세포는 측정된 모든 기능(TNF-α 생산, IFN-γ 생산 및 CD107a 동원, 도 4c 및 도 4d)을 자세히 설명할 수 있었다. Tri-TAC로 조작된 T 세포는 CAR로 조작된 T 세포에 비해 자극 후 CD107a 양성 세포의 상승된 빈도를 보였으며(도 4d), 이는 세포당 기준으로 세포 독성이 상승하였음을 시사한다.

[0217] [도 6a] 내지 [도 6j]는 Tri-TAC 기능성에 대한 리간드 결합 도메인 및 UCHT1 CD3 결합 도메인의 중요성을 확인하는 데이터를 제공한다. T 세포는 HER-2 DARPin을 보유하는 전장의 Tri-TAC(도 6g, 도 6h, 도 6i, 맨 아래 줄), DARPin이 없는 Tri-TAC 변이체(도 6a, 도 6b. 도 6c, 맨 위 줄), 또는 UCHT1이 없는 Tri-TAC 변이체(도 6d, 도 6e, 도 6f, 중간 줄)로 조작하였다. 조작된 세 가지 T 세포 집단 모두 HER-2-양성 종양 세포로 자극하였다. 전장의 Tri-TAC로 조작된 T 세포는 자극 후 IFN-g, TNF- 및 IL-2를 생산할 수 있는 반면, 변이체는 자극 후 사이토카인을 전혀 생산하지 못하였다. 3개의 T 세포 집단은 또한 4:1의 이펙터:표적에서 D2F2/E2 세포(HER-2 발현) 또는 D2F2 세포(HER-2 음성)와 공동 배양하였다(도 6j). 전장의 Tri-TAC로 조작된 T 세포는 D2F2/E2 세포에 대해 강력한 사멸을 보였지만 D2F2 세포는 사멸시키지 않았다. DARPin 또는 UCHT1이 없는 다른 Tri-TAC 변이체는 사멸을 나타내지 않았다.

[0218] [도 7a] 내지 [도 7c]는 벡터 대조군(NGFR), 항-HER-2 DARPin CAR 또는 항-HER-2 DARPin Tri-TAC로 처리된 마우스의 결과를 보여준다. 이종 이식 마우스 모델을 사용하였다. OVCAR-3 종양 세포를 마우스에 피하 투여하고 종양이 100 내지 200mm^3 크기에 도달할 때까지 성장하도록 두었다. [도 7a]는 처리일에 종양 크기에 대해 정규화된 상대적인 종양 진행을 보여준다. 항 HER-2 DARPin Tri-TAC 조작된 T- 세포는 종양 부피를 급격히 감소시켰고, 대조군은 효과를 나타내지 않았으며, CAR 세포는 종양 성장을 늦추고 종양 크기의 지연된 감소를 나타냈다. [도 7b]는 T 세포 주입 후 체중의 상대적인 변화를 예시한다. 대조군 및 항-HER-2 DARPin Tri-TAC 조작된 세포는 처리 후 마우스 체중에 유의한 변화가 없음을 보여준다. 대조적으로, 항-HER-2 DARPin CAR 처리된 마우스는 심각한 독성을 나타내는 상당한 체중 감소를 나타낸다. [도 7c]는 T 세포 주입 후 제7일에 마우스 혈청 내 사이토카인 농도를 예시한다. 사이토카인 수준은 Tri-TAC 처리된 마우스에 비해 CAR 처리된 마우스에서 더 높았다.

[0219] **실시예 2: UCHT1의 치환은 Tri-TAC 기능에 영향을 준다**

[0220] [도 8a] 내지 [도 8h]는 대안적인 CD3 결합 도메인을 보유하는 Tri-TAC의 기능성을 예시한다. 도메인은 [도 8a]

및 [도 8e]에 나열되어 있다. UCHT1(도 8b), OKT3(도 8b) 및 huUCHT1(도 8f)을 포함하는 Tri-TAC는 높은 표면 발현을 보였던 반면, F6A(도 8f) 및 L2K(도 8f)를 포함하는 Tri-TAC는 더 낮은 표면 발현을 보였다. OKT3를 포함하는 Tri-TAC를 발현하는 세포는 Tri-TAC 연결 시 낮은 사이토카인 생산(도 8c,도 8c1) 및 중간 세포 독성(도 8d)을 나타냈다. F6A를 포함하는 Tri-TAC를 발현하는 세포는 Tri-TAC 연결 후 강한 사이토카인 생산(도 8g, 도 8g1) 및 세포 독성(도 8h)을 나타냈다. L2K를 포함하는 Tri-TAC를 발현하는 세포는 낮은 사이토카인 생산(도 8g, 도 8g1) 및 중간 세포 독성(도 8h)을 나타냈다.

[0221] [도 9a] 내지 [도 9h]는 [도 8a] 및 [도 8e]에 도시된 상이한 Tri-TAC 변이체로 조작된 T 세포 상의 TCR 표면 발현을 예시한다. OKT3(도 9a, 도 9e 및 도 9b, 도 9f) 또는 L2K(도 9c, 도 9g 및 도 9d,도 9h)를 포함하는 Tri-TAC 변이체로 조작된 T 세포는 각각 UCHT1 또는 huUCHT1을 포함하는 Tri-TAC로 조작된 T 세포에 비해 더 낮은 TCR 표면 발현을 나타냈다. 대조적으로, F6A를 포함하는 Tri-TAC 변이체로 조작된 T 세포는 huUCHT1을 보유하는 Tri-TAC에 비해 TCR 하향 조절을 나타내지 않았다(도 9c, 도 9g 및 도 9d, 도 9h). F6A 치환은 Tri-TAC 수용체 표면 발현을 감소시키면서 중등도의 사이토카인 생산과 세포 독성을 유지하였다. L2K 치환은 표면 발현을 중등도로 감소시키고 사이토카인 생산을 감소시켰지만 중간 세포 독성을 유지하였다. OKT3 치환은 높은 Tri-TAC 표면 발현, 낮은 사이토카인 생산, 및 중간 세포 독성을 초래하였다. 이러한 데이터는 Tri-TAC 표면 발현 및 T 세포 이펙터 기능이 본질적으로 비례하지 않고 일부 경우에 Tri-TAC 도메인 치환이 표면 발현 수준과 무관하게 이펙터 기능을 변경한다는 것을 나타낸다. 세포 독성이 감소하고 표면 발현이 낮은 TAC 변이체는 특정 임상 적용에서 가치가 있을 수 있다고 생각할 수 있다.

[0222] 많은 경우에, scFv 치환은 IFN-γ, TNF-α, 및 IL-2를 만들어내는 조작된 T 세포의 능력을 약화시켰지만 조작된 T 세포는 표적 세포를 사멸시키는 능력을 유지하였다. 과도한 사이토카인 생산은 임상 환경에서 이상 반응과 관련되어 현재 CAR 기술을 생명을 위협하는 질환에 국한시킨다. 중등도의 세포 독성을 유지하면서 사이토카인 생산을 감소시키기 위해 TAC 분자를 변형하는 능력은 임상 효능 및 안전성을 충족시키는 데 필요한 정확한 수준의 반응성을 가진 Tri-TAC 수용체를 생성할 수 있게 할 것이다.

[0223] OKT3를 포함하는 Tri-TAC 변이체가 세포 독성을 유지하면서 TCR 표면 발현 및 사이토카인 생성을 억제하는 능력은 TCR의 억제가 이식편 대 숙주 질환을 억제할 수 있는 동종 이계 상황에서 큰 가치가 있을 수 있다.

[0224] 이들 데이터는 UCHT1의 scFv 치환이 Tri-TAC의 기능에 영향을 미친다는 것을 입증한다. 추가 변형으로 다양한 응용 분야(예를 들어, 종양학, 자가 면역, 알레르기)에 유용한 Tri-TAC가 생성될 것이다.

[0225] **실시예 3. TCR 복합체에 결합하는 리간드를 표적 결합 리간드 도메인에 연결하는 다양한 링커의 도입**

[0226] [도 10a] 내지 [도 10b]는 TCR 복합체에 결합하는 리간드와 표적 결합 리간드 도메인을 연결하는 상이한 링커를 갖는 여러 TAC 변이체를 예시한다. 가요성 연결기는 두 도메인 간의 움직임을 허용한다. 큰 도메인 연결기는 두 개의 접힌 도메인을 포함하며 매우 크고 강성이다. 작고 긴 나선형 연결기도 강성을 도입하지만 큰 도메인 링커와 비교할 때 덜 제한적이다.

[0227] [도 11a] 내지 [도 11e]는 Tri-TAC 연결 시 Tri-TAC 표면 발현, Tri-TAC 형질 도입 효율, 및 사이토카인 생산에 미치는 연결기 치환의 영향을 예시한다. [도 11a] 및 [도 11b]는 나선형 링커가 가요성 링커와 비교할 때 표면 발현 및 형질 도입 효율을 향상시키는 반면, 큰 도메인 연결기는 형질 도입 효율을 향상시키지만 표면 발현을 향상시키지는 않는다는 것을 보여준다. [도 11d], [도 11e]는 짧은 나선형, 긴 나선형, 또는 큰 도메인 연결기를 갖는 Tri-TAC를 발현하는 세포에 의한 사이토카인 생산을 예시한다.

[0228] [도 12a]는 짧은 나선형 연결기를 갖는 Tri-TAC를 발현하는 T 세포의 향상된 시험관 내 세포 독성을 예시한다. [도 12b]는 짧은 나선형 연결기를 갖는 Tri-TAC를 발현하는 T 세포의 향상된 생체 내 종양 제어를 예시한다. 짧은 나선형 연결기는 높은 시험관 내 세포 독성 및 효과적인 생체 내 종양 제어와 관련되었다.

[0229] **실시예 4. CD8α/β 시토졸 도메인의 도입**

[0230] [도 13a]는 항-HER-2 scFv 또는 [도 13c] 항-HER-2 DARPin과 대응된 CD8α Tri-TAC의 표면 발현을 예시한다. [도 13b]는 항-HER-2 scFv 또는 항-HER-2 DARPin과 대응된 CD8α Tri-TAC를 발현하는 T 세포에 의한 사이토카인 생산을 예시한다.

[0231] [도 14a]는 CD4 Tri-TAC 단량체 및 CD8α/β 이종 이량체를 예시한다. TCR 공수용체, CD4 및 CD8 모두는 공수용체 기능성에 중요한 기능성 도메인을 보유한다. 이러한 영역에는 지질 뗏목 결합에 중요하다고 가정되는 아르기닌 풍부 영역과 Lck 결합에 필요한 CXCP 모티프가 포함된다. 단량체인 CD4와 달리 CD8 공수용체는 α와 β 서

브유닛으로 구성된 이종 이량체이다(도 14a). α 및 β CD8 서브유닛 모두 아르기닌 풍부 영역을 포함하지만 α 서브유닛만이 CXCP 모티프를 포함한다.

[0232] [도 14b] 내지 [도 14d]는 [도 14a]에 도시된 CD8 공수용체로부터의 요소를 포함하는 Tri-TAC 변형의 개략도를 제공한다. 모든 CD8 Tri-TAC 변이체에서 CD8α와 CD8β의 이량체화를 담당하는 시스테인을 알라닌으로 대체하였다. [도 14b]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이 및 CD8α 시토졸 도메인을 포함하는 CD8α Tri-TAC의 개략도이다. [도 14c]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이 및 CD8α 아르기닌 풍부 영역이 CD8β 아르기닌 풍부 영역으로 대체된 키메라 CD8α 시토졸 도메인을 포함하는 CD8α+Rβ Tri-TAC의 개략도이다. [도 14d]는 단량체 수용체 분포를 보장하기 위한 시스테인에서 세린으로의 돌연변이, 및 Lck 결합 모티프를 포함하는 CD8α CXCP 도메인이 CD8β 시토졸 도메인의 C-말단에 추가된 키메라 CD8β 시토졸 도메인을 포함하는 CD8β+Lck Tri-TAC의 개략도이다.

[0233] [도 15a] 내지 [도 15d]는 프로토타입 Tri-TAC에 대한 CD8 기반 Tri-TAC 변이체의 다양한 표현형 및 기능적 속성을 예시한다. [도 15a] 내지 [도 15b]는 프로토타입 Tri-TAC에 대한 CD8-Tri-TAC 변이체의 표면 발현을 예시한다. 표면 발현은 상이한 Tri-TAC 사이에서 비슷했다. [도 15c]는 LOX IMVI(HER-2 음성) 및 A549, SKOV3, SKBR3 또는 MBA MB 231(모두 HER-2 양성임)과 공동 배양된 CD8-Tri TAC 변이체의 시험관 내 세포 독성을 예시한다. Tri-TAC로 조작된 모든 T 세포는 세포 독성을 나타냈다. [도 15d]는 CD8 Tri-TAC 변이체 또는 프로토타입 Tri-TAC로 조작된 T 세포의 세포 분열을 예시한다(도 15d). [도 15e]는 CD8 Tri-TAC 변이체 또는 프로토타입 Tri-TAC를 포함하는 조작된 T 세포의 TCR 표면 발현을 예시한다. 모든 Tri-TAC 변이체는 TCR 발현에 유사한 영향을 미쳤다. CD4 공수용체는 scFv 및 DARPin 항 HER-2 모두에 의해 우수한 표면 발현 및 기능성을 보여주었지만, CD8α 구축물은 DARPin 항원 결합 도메인과 관련하여서만 활성을 나타냈다. 상이한 CD8α 시토졸 도메인을 테스트할 때 모든 구성은 공수용체 기능성(아르기닌 풍부 영역 및 CXCP)과 관련된 보고된 주요 서열 속성을 포함하였다. 모든 CD8α/β 구조물은 CD4 프로토타입과 비교할 때 유사한 성능을 나타냈다. 이것은 지질 뗏목 친화성 및 Lck 결합과 같은 특정 생화학적 특성의 보유가 특정 시토졸 폴리펩티드 서열보다 Tri-TAC 성능을 결정하는 데 더 중요하다는 것을 강조한다.

[0234] CD8α+R(β) 및 CD8β+Lck Tri-TAC로 조작된 T 세포의 성장은 다른 변이로 조작된 T 세포의 성장에 비해 현저하게 악화되었다. 성장에 상당한 영향을 미쳤음에도 이러한 Tri-TAC는 모두 T 세포를 활성화하는 비슷한 능력을 보여주었다. CD8α+R(β) 및 CD8β+Lck Tri-TAC의 감소된 성장은 최대 T 세포 확장이 바람직하지 않은 특정 적용에 유리할 수 있다.

[0235] **실시예 5. CD19-TAC 구축물의 개발**

[0236] [도 16]은 CD19-TAC 구축물의 단계적 개발을 예시한다. CD19 특이성, 적절한 TAC 발현, 및 GMP 등급 렌티바이러스 생산을 보장하기 위해 설계 요소의 다양한 변경으로 여러 세대의 렌티바이러스 벡터를 생성한다. 각 상자는 렌티바이러스 벡터를 나타내며 세 가지 주요 설계 요소 (A) 항원 결합 도메인, (B) TCR/CD3 결합 도메인 및 (C) 공수용체 도메인을 지정한다. 음영 처리된 영역은 벡터 개발 과정 중에 변형 대상이었던 도메인을 나타낸다.

[0237] 첫 번째 단계에서 TAC는 HER-2 특이적으로 설계된 안키린 반복 단백질(DARPin), 뮤린 UCHT1 CD3 특이적 scFv, 및 가요성 막 횡단 및 시토졸 CD4 폴리펩티드를 포함한다. TAC는 pCCL4 렌티바이러스 벡터에 클로닝한다.

[0238] CD19 특이적 Tri-TAC를 생성하기 위해, HER-2 특이적 DARPin은 항-CD19 scFv에 융합된 N-말단 CD8a 리더 펩티드를 포함하는 폴리펩티드로 대체하였다. CD19 scFv의 중쇄 및 경쇄는 글리신-세린 링커 영역을 통해 연결하였다.

[0239] UCHT1 도메인은 면역원성을 감소시키기 위해 인간화 형태(huUCHT1)로 대체하였다. 이 TAC 구축물은 전구체보다 우수한 표면 발현 수준을 나타냈다.

[0240] 기능성을 손상시키지 않고 T 세포의 세포 표면에서 수용체 발현을 추가로 개선하기 위해, 두 개의 별개의 변형을 동시에 평가하였다. 단쇄 안정화를 증가시키기 위해, 항-CD19 scFv에 사용된 G_4S 링커(서열 번호 73)는 보다 구조화된 Whitlow 링커로 대체하였다. 별도로, Y177T 돌연변이를 huUCHT1 도메인에 도입하였다. 두 전략 모두 TAC 수용체의 발현을 향상시켰으며, Whitlow 링커와 Y177T 돌연변이 모두를 갖는 수용체를 생성하였다.

[0241] [도 17]은 pCCL 렌티바이러스 벡터 내 CD19-TAC 삽입체를 예시한다. pCCL 벡터는 △NGFR(hu)가 mCMV 프로모터의 제어하에 있고 TAC 발현이 EF-1α 프로모터에 의해 유도되는 양방향 프로모터 시스템을 특징으로 한다. △NGFR(hu)은 절두된 인간 CD271(종양 괴사 인자 수용체 수퍼 패밀리 구성원 16)이며 막 횡단 도메인을 갖지만 시

토졸 신호 전달 도메인이 없다. △NGFR(hu) 발현 생성물은 렌티바이러스 형질 도입을 정량화하는 데 사용된다. CD19-TAC#921 오픈 리딩 프레임은 TAC 구축물의 주요 요소인 CD8α 리더, FMC63 단쇄(항-CD19 scFv), 인간 c-Myc 태그, huUCHT1(Y177T) 및 △CD4 도메인을 보여주기 위해 확대되어 있다. 뮤린 UCHT1 CD3 엡실론 결합 경계면의 잔기에 무작위로 도입된 점 돌연변이를 조사하여 huUCHT1(Y177T) 돌연변이를 확인하였다. 스크리닝에서, (Y177T) 돌연변이를 성공적으로 확인하였다. (Y177T) 돌연변이는 T 세포 활성화를 유지하면서 더 나은 Tri-TAC 표면 발현을 초래한다. △CD4는 4개의 CD4 세포 외 면역글로불린 유사 도메인이 없으며 세포 외 링커, 막 횡단 및 시토졸 도메인을 보유한다.

[0242] GMP 등급 렌티바이러스 벡터를 생성하기 위해, CD19-Tri-TAC 구축물을 MSCV 프로모터의 제어하의 새로운 렌티바이러스 벡터로 클로닝하였다. CD19-Tri-TAC 구축물은 [도 17]에 나타낸 것과 동일하다.

[0243] **실시예 6. 상이한 공여자 물질로부터 CD19-TAC 발현 T 세포를 제조하는 능력**

[0244] [도 18]은 다수의 공여자로부터 제조된 CD19 TAC 발현 T 세포의 효능을 예시한다. CD19-TAC 발현 T 세포는 세 가지 다른 공여자의 T 세포를 사용하여 생산하였으며 NALM-6 종양 모델에서 테스트하였다. 확립된 NALM-6 종양을 보유한 마우스를 4 x 10^6 CD19 TAC 발현 T 세포의 단일 용량으로 처리하였다. 대조군 마우스는 빠른 종양 성장을 보였으며 모든 마우스는 연구 종료시까지 종점에 도달하였다. 공여자 1 & 2의 T 세포 생성물은 모든 마우스에서 완전한 제어를 가져 왔다. 공여자 3의 T 세포 생성물은 모든 마우스에서 강력한 종양 제어를 초래하였으며 처리된 4마리 마우스 중 2마리에서 장기간 제어를 나타냈다. 연구는 종양 거부가 여러 건강한 공여자로부터 유래한 CD19 TAC 발현 T 세포에 의해 달성됨을 확인해준다. [도 18]에서 NALM-6 종양 모델의 결과는 효과적인 CD19 TAC가 여러 공여자 출처 물질로부터 생산됨을 시사한다.

[0245] **실시예 7. CD19-TAC 발현 T 세포의 시험관 내 세포 독성 및 생체 내 효능**

[0246] 다양한 CD19 양성 세포와 효과적으로 결합하는 CD19-TAC의 능력을 평가하기 위해, Tri-TAC 조작된 T 세포를 NALM-6(급성 림프모구성 백혈병), Raji(버킷 림프종) 또는 Jeko-1(외투 세포 림프종)과 공동 배양하였다. NALM-6, Jeko-1 및 Raji 세포는 생체 발광 이미징을 통해 시험관 내 및 살아있는 동물에서 종양 부담을 추적할 수 있도록 강화된 반딧불이 루시퍼라제로 조작하였다.

[0247] [도 19a] 내지 [도 19c]는 CD19-TAC 발현 T 세포에 의한 종양 세포주의 사멸을 예시한다. 효과는 용량 의존적이며 이펙터 대 표적(E:T) 비율이 증가함에 따라 증가하였다. 음성 대조군으로서, △TAC(항원 결합 도메인이 없음) 또는 형질 도입되지 않은 T 세포로 조작된 세포를 사용하였다. 이들 결과는 CD19-TAC 발현 T 세포가 CD19 양성 종양 세포를 사멸시킨다는 것을 입증한다.

[0248] [도 19d] 내지 [도 19g]는 NALM-6(급성 림프모구성 백혈병), Raji(버킷 림프종) 또는 Jeko-1(외투 세포 림프종) 액체 종양이 이식된 마우스에서 CD19-TAC의 효능을 평가하는 생체 내 연구의 설계 및 결과를 예시한다. NALM-6, Raji 및 Jeko-1 종양을 일으키기 위해, 마우스에 NALM-6, Raji 또는 Jeko-1 세포를 접종하고 각각 4일 또는 7일 동안 수용하여 종양의 생착을 허용하였다. 제4일 또는 제7일에, CD19-TAC 발현 T 세포를 정맥 내 꼬리 정맥 주사로 제공하였다. 종양 부담은 매주 간격으로 측정하였으며 데이터는 평균 방사 휘도[p/s/cm^ 2/sr]로 플로팅한다.

[0249] [도 19e] 내지 [도 19g]는 CD19-TAC 조작된 T 세포가 NALM-6(급성 림프모구성 백혈병), Raji(버킷 림프종) 또는 Jeko-1(외투 세포 림프종) 액체 종양에서 종양 퇴행 및 장기간 종양 제어를 유도하는 데 효과적임을 예시한다.

[0250] [도 19a] 내지 [도 19g]에서 NAML-6, Raji 또는 Jeko-1 종양 모델의 결과는 CD19-TAC가 다양한 CD19 양성 종양 모델에서 효과적임을 시사한다.

[0251] **실시예 8. CD19-TAC 발현 T 세포 지속성 및 지속하는 종양 면역.**

[0252] [도 20a] 내지 [도 20b]는 CD19-TAC 발현 T 세포를 받은 마우스에서 종양 면역의 지속성 및 재투여에 대한 내성을 예시한다. 확립된 NALM-6 종양을 보유하는 마우스에 CD19-TAC-발현 T 세포를 처리하였다.

[0253] [도 20a]는 마우스에서 CD19-TAC 지속성을 측정하기 위한 실험 설정을 예시한다. 마우스에 NALM-6 세포를 먼저 접종하고, 4일 생착 기간 후 CD19-TAC로 처리하였다. 모든 마우스는 종양 퇴행과 완전한 종양 제어를 보였다. 최초 처리 56일 후 마우스에 NALM-6(CD19 양성) 또는 KMS11(CD19 음성) 액체 종양을 재접종하였다. 모든 경우에 미접촉(naïve) 마우스에 종양 세포를 동시 주입하고 음성 대조군으로 사용한다. 종양 부담은 발광 신호로 추적

한다.

[0254] [도 20b]: 확립된 NALM-6 종양을 보유하는 마우스에 총 4 x 10^6개의 조작된 세포의 분할 용량으로서 제공된 CD19-TAC-발현 T 세포를 처리하였다. 대조군으로서, 미처리 동물 그룹을 사용하였다. ACT 후, 처리된 마우스는 지속성 있는 항종양 반응을 나타냈다. 대조적으로, 대조군 마우스는 종양 질량이 기하급수적 증가를 보였으며 종양 부담 관련 종점에 도달하였다. ACT 후 제56일에, 마우스에 NALM-6 종양 세포(CD19 양성) 또는 KMS11 종양 세포(CD19 음성)를 재투여하였다. CD19-TAC 처리된 마우스는 NALM-6(CD19 양성) 종양 세포로부터 보호된 상태로 유지되지만 KMS11(CD19 음성) 종양 세포로부터는 보호되지 않는다.

[0255] [도 20a] 및 [도 20b]의 재투여 실험 결과는 CD19-TAC가 일부 경우에 항종양 특성을 유지하는 오래 지속되는 기억 세포로 분화됨을 시사한다.

[0256] **실시예 9. CD19-TAC 발현 세포의 생체 내 확장 및 용량 의존성.**

[0257] [도 21] 및 [도 22]는 NALM-6 암 모델에서 CD19-TAC 발현 T 세포의 용량 의존성, 용량 요법(분할 또는 단일) 및 확장을 예시한다. [도 21a]는 실험 설계를 예시한다. 마우스는 종양 접종 후 제4일에 단일 용량의 CD19-TAC 발현 T 세포, 또는 7일 간격으로 투여하는 분할 용량을 받았다. 여러 CD19-TAC 발현 T 세포 용량을 테스트하였다: 0.5 x 10^6, 1 x 10^6, 및 4 x 10^6개 세포. [도 21b] 대조군 그룹의 마우스는 4 x 10^6개의 형질 도입되지 않은 세포 또는 동결 배지(비히클 대조군)를 받는다.

[0258] [도 21b]는 NALM-6 주사 및 CD19-TAC 주사 후 마우스의 생존율을 예시한다. 용량 의존적 생존율 촉진은 단일 용량 및 분할 용량 그룹 모두에서 관찰되었으며, 가장 높은 단일 투여 용량은 종양 성장을 제한하고 마우스의 생존을 촉진하였다.

[0259] [도 22a]는 T 세포 증식을 평가하기 위해 사용된 게이팅 전략을 예시한다. 림프구 집단에 대해 선별하는 전방 및 측방 산란을 기반으로 세포를 선별하였다. 단일 세포는 높이 게이트 위의 전방 산란 영역을 통해 확인하였다. 살아있는 세포는 근적외선 게이팅을 통해 확인하였다. 인간 세포는 hCD45 게이트를 통해 확인하였다. 생성된 세포 서브세트를 CD3 양성 세포로 추가로 분할하였다. 그런 다음, 이 세포들을 CD4/CD8과 단백질 L에서 게이팅하였다. 염색 전략은 뮤린 혈액 세포를 확인하기 위해 muCD45_1도 포함하였다. NALM-6 세포를 염색하기 위해 CD19를 포함하였다.

[0260] [도 22b]는 분할 용량 입양 T 세포 전달(ACT: adoptive T cell transfer) 후 마우스에서 T 세포의 확장. ACT 후 혈액 샘플을 정기적으로 채취하여 유세포 분석을 통해 분석하였다. 값은 ACT1 후 혈액에 존재하는 총 T 세포 수에 대해 정규화하였다. 값은 또한 혈액 채취의 차이를 설명하기 위해 총 CD45.1+(뮤린) 세포 수에 대해 정규화하였다. CD19-TAC 조작된 세포로 처리된 마우스의 T 세포는 첫 번째 ACT 후 약 1 내지 2주 이내에 수여 마우스에서 확장되는 것으로 나타났다(도 22b). 형질 도입되지 않은 세포는 확장되지 않았다(도 22b).

[0261] 다양한 용량, 용량 용법(도 21b) 및 T 세포 카운트(도 22b)의 결과는 CD19-TAC 효능이 용량 의존적이며, 조작된 T 세포가 생체 내에서 확장되며, 이 확장이 CD19 양성 종양을 보유한 동물의 CD19-TAC 조작된 세포에 특이적임을 시사한다.

[0262] **실시예 10. CD19-TAC 처리의 생체 내 효능, 장기간의 효능 및 안전성**

[0263] [도 23] 내지 [도 25]는 장기간의 안전성 및 효능(도 23) 및 임의의 급성 치료 관련 독성의 부재(도 24 내지 도 25)를 보여준다.

[0264] [도 23a]는 실험 설계를 예시한다. 마우스에 0.5 x 10^6개의 강화된 루시퍼라제 조작된 NALM-6 세포를 주사하고, 이들이 4일 동안 생착하도록 하였다. 그런 다음 마우스에 단일 용량 투여로 2가지 용량 수준의 CD19-TAC 조작된 T 세포(4 및 12 x 10^6개의 조작된 세포)를 처리한다. 그런 다음 정기적인 발광 측정을 통해 종양 성장을 추적하였다. 마우스 행동 및 물리적 특성(그루밍, 운동성, 털의 완전성)을 검사하여 마우스 건강을 정기적으로 평가하였다.

[0265] [도 23b]는 비히클 단독(냉동 배지), 조작되지 않은 대조군 세포(최고의 조작된 처리 그룹의 총 T 세포 용량과 동일한 총 T 세포 용량) 및 4 또는 12x 10^6개의 조작된 CD19-TAC 조작된 세포로 처리한 후 발광을 통한 종양 부담을 예시한다. 두 대조군 모두 빠른 종양 성장을 나타내며 항종양 효능은 나타내지 않는다. 대조군 용량은 비히클 단독에 비해 종양 성장을 지연시키는데, 이는 아마도 생착 환경에 대한 고용량 T 세포와 종양 세포 사이의

경쟁으로 인한 것이다. 조작된 T 세포는 모든 경우에서 종양 퇴행을 보여준다. 고용량 처리 그룹은 모든 경우에서 완전한 종양 제어를 보여준다. 4 x 10^6 처리 그룹은 완전 제어된 3마리의 마우스, 종양 성장이 지연된 한 마리, 제어되었지만 종양 부담이 높은 한 마리를 보여준다.

[0266] [도 23c]는 상이한 처리 그룹의 전체 생존율을 예시한다. 비히클 및 조작되지 않은 대조군 마우스 모두에서, 모든 마우스는 각각 23일 내지 35일 이내에 종양으로 죽는다. 고용량 CD19-TAC 처리의 경우 모든 마우스는 GvHD 증상을 나타내며 61일 이내에 GvHD로 죽는다. GvHD는 마우스 모델 자체의 결과이고 변형된 T 세포에 의한 처리의 결과는 아니다. 저용량 마우스는 90일에 연구가 끝날 때까지 3마리의 마우스 생존을 보여주고, 한 마리 마우스는 높은 종양 부담에 죽고, 한 마리 마우스는 GvHD에 죽는다.

[0267] [도 24] 및 [도 25]는 비히클 대조군, 조작되지 않은 세포 및 CD19-TAC(4 및 12 x 10^6개의 유효 CD19-TAC 조작된 세포) 처리된 마우스로부터의 임상 화학 매개 변수 및 사이토카인 수준을 예시한다. 마우스는 ACT 후 5, 12 및 33일에 혈액을 채취하면서 33일 동안 추적하였다. CD19-TAC 처리된 마우스만이 33일 동안 생존하였다. 비히클 대조군 마우스는 3차 혈액 샘플을 수집하기 전에 종양 부담에 죽었고, 조작되지 않은 세포는 마우스가 종양 부담 관련 종점에 도달하기 직전, 제26일에 일찍 희생시켰다. 모든 혈액 샘플은 여러 임상 화학 매개 변수 및 사이토카인 수준에 대해 분석하였다.

[0268] [도 24]는 제5일 및 제12일에 CD19-TAC 처리된 마우스가 대조군 그룹에 비해 유의하게 더 높은 매개 변수를 나타내지 않음을 예시한다. 제33일에 처리된 모든 마우스는 초기 처리 시점에 비슷한 임상 화학 매개 변수를 보여준다. 단, 일부 마우스가 제26일에 샘플링된 조작되지 않은 세포로 처리된 마우스와 유사하게 높은 수준을 겪는 알라닌 아미노트랜스퍼라제(ALT) 및 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제(AST)는 예외이다.

[0269] [도 25]는 제5일, 제12일 및 제33일의 사이토카인 반응을 예시한다. ACT 후 제5일에 대조군을 제외하고 CD19-TAC 대조군 마우스는 테스트된 모든 사이토카인에서 상승을 나타낸다. 사이토카인 증가는 항원 양성 NALM-6 종양 세포를 인식하고 이에 반응하는 CD19-TAC 조작된 T 세포의 염증 반응과 일치한다. 제12일까지의 초기 반응 후 사이토카인 수준이 떨어지는데, 이는 당시 유도된 종양 퇴행 및 일반적으로 낮은 종양 부담과 관련된다. 제12일에 CD19-TAC 처리된 것 사이에서 사이토카인 수준은 IL10을 제외하고는 조작되지 않은 T 세포와 유사하거나 낮다. 후기 단계에서 형질 도입되지 않은 T 세포 또는 CD19-TAC 조작된 T 세포로 처리된 모든 마우스는 아마도 GvHD 발병과 관련된 사이토카인의 증가를 보여준다. 또한, 제5일, 제12일, 제26일 및 제33일에 사이토카인 반응을 예시하는 [도 29]를 참조한다.

[0270] CD19-TAC로 처리된 마우스의 장기간의 추적 결과 및 이들의 임상 화학 프로파일은 조작된 T 세포가 사용하기에 안전하고 CD19-TAC 조작에 의해 특별히 유발된 독성의 징후를 나타내지 않음을 입증한다. 사이토카인 연구의 결과는 모든 사이토카인 수준이 감소한 후 항종양 효능과 관련된 초기 염증 반응을 보여주며, 이는 제어된 염증 반응을 시사한다.

[0271] **실시예 11. 여러 BCMA Tri-TAC 변이체의 생체 내 효능**

[0272] [도 26]은 다양한 BCMA Tri-TAC 구축물의 생체 내 효능 연구를 예시한다. [도 26a]는 전체 실험 설계를 예시한다. 1 백만개의 루시페라제 조작된 KMS11(BCMA 양성) 종양 세포를 12일 동안 생착하도록 두었다. 그런 다음 마우스에 4 백만개의 BCMA 구축물 및 대조군의 단일 유효 용량을 처리하였다(도 26b). 발광 측정을 통해 종양 부담을 정기적으로 평가하였다. 그런 다음 종양 퇴행 및 종양 제어를 보여준 모든 마우스에 ACT 후 제25일에 1 백만개의 KMS11 세포를 재투여하였다.

[0273] [도 26c]: ACT 후, 대조군 마우스는 19일 내지 25일 이내에 종양 관련 종점에 도달하는 종양 세포의 급속한 성장을 나타냈다. 대조적으로 모든 BCMA-TAC 처리된 마우스는 초기 종양 퇴행을 보였다. 종양 제어는 G_4S(서열 번호 73) 3625VH-VL이 가장 낮은 수준의 초기 종양 제어를 나타내고 짧은 나선형 3625 VL-VH가 가장 높은 수준의 초기 종양 제어를 나타내면서 구축물에 걸쳐 다양했다. 재투여 후, 제25일까지 종양 제어를 유지했던 모든 구축물의 대다수는 재투여로부터 보호된 상태를 유지하였다.

[0274] 이 생체 내 연구의 결과는 다양한 BCMA Tri-TAC 구축물이 KMS11(BCMA 양성) 액체 종양을 제어하는데 효과적이라는 것을 입증한다. 그러나 선호되는 특정 구성은 우수한 효능을 제공한다. 일반적으로 나선형 연결기 영역은 동일한 scFv 구성 내에서 가요성 링커와 비교할 때 상대적인 이점을 제공하였다.

[0275] **실시예 12. TAC-Her2의 생체 내**

[0276] 마우스 뒷쪽 옆구리에 OVCAR3 고형 종양을 접종한다. 종양이 확립되고 100mm^3 크기로 성장하도록 둔다. 그런 다음 마우스에 TAC-Her2 조작된 T 세포의 꼬리 정맥 주사 처리한다. 종양 부피를 정기적으로 측정한다.

[0277] **실시예 13. 임상 시험**

[0278] ASCT를 포함하는 2가지 이상의 이전 요법 요법에 실패했거나 ASCT에 적격하지 않은, CD19 양성 미만성 거대 B 세포 림프종을 앓고 있는 18세 이상의 피험자를 CD19-TAC 발현 세포로 치료하는 임상 연구를 수행한다. 이 연구는 최대 허용 용량(MTD: maximum tolerated dose) 또는 2상 권장 용량(RPh2D)을 결정하기 위한 용량 증량 단계를 특징으로 하는 개방 표지, 단일 군, 1/2상의 2단계 임상 시험이며, 선택된 용량에서 확장 코호트가 뒤따른다.

[0279] 등록시, 피험자는 CD19-TAC 발현 T 세포의 제조를 위한 T 세포를 얻는 백혈구 채집을 거친다. 성공적으로 제조되면 피험자는 치료 단계에 들어간다. 이 단계는 플루다라빈 및 시클로포스파미드를 사용한 림프 제거 화학 요법 후 CD19-TAC 발현 T 세포의 정맥 내(IV) 투여를 포함한다. CD19-TAC 발현 T 세포로 치료한 후, 피험자는 치료 후 추적 조사에 들어가고 CD19-TAC 발현 T 세포의 마지막 투여 후 2년 동안 안전성, 질환 상태, 및 생존에 대해 추적된다. 연구 완료 후, 피험자는 CD19-TAC 발현 T 세포의 마지막 투여 후 최대 15년 동안 별도의 장기간 추적 프로토콜에서 생존, 장기간 독성 및 바이러스 벡터 안전성에 대해 추적된다.

[0280] 모든 그룹에서 연구 전체에 걸쳐 안전성을 평가한다. T 세포 확장은 CD19-TAC 발현 T 세포의 첫 번째 투여 시점부터 세포가 더 이상 검출되지 않을 때까지 평가한다. 방사선학적 질환 평가는 치료 전, CD19-TAC 발현 T 세포의 마지막 투여 후 약 3, 6, 9, 12, 18 및 24개월, 또는 진행성 질환 또는 추가 항암 요법에 의한 치료까지 양전자 방출 단층 촬영(PET: positron emission tomography) 및/또는 컴퓨터 단층 촬영(CT: computed tomography) 스캔으로 수행한다.

[0281] **실시예 14. CD19-TAC 발현 T 세포 완제 의약품의 제조**

[0282] CD19-TAC 발현 T 세포 완제 의약품의 제조 공정은 백혈구 채집 산물로부터 CD4/CD8 T 세포를 선별하는 단계, CD4/CD8 양성 세포를 활성화하는 단계, CD19-TAC 구축물을 포함하는 렌티바이러스 벡터(실시예 5에 설명된 바와 같음)로 세포를 형질 도입하는 단계, 형질도입된 세포를 제안된 투여 일정에 적합한 수준으로 확장하는 단계, 및 최종 산물을 수거하고 동결 보존하는 단계를 포함한다.

[0283] 관련 고유 피험자 식별자(UPN: unique subject identifier)가 있는 환자의 백혈구 채집 물질은 제조 현장으로 접수되어 고유 검체 번호(ISN: unique specimen number)가 주어진다. CD4/CD8 세포를 선별하고 배양 공정 단계가 시작될 때까지 냉동 보존한다.

[0284] 동결 보존된 CD4/CD8 양성으로 선별된 T 세포를 37℃에서 해동하고, 적절한 배지에 재현탁하고 활성화 시약과 함께 배양 백에 접종하고, 배양물을 37℃/5% CO2에서 밤새 인큐베이션한다.

[0285] 세포를 적절한 감염 다중도(MOI: multiplicity of infection)에서 CD19-TAC 렌티바이러스 벡터로 형질 도입하고 37℃/5% CO2에서 밤새 인큐베이션한다. 다음날에, 배양물은 원하는 세포 농도를 유지하기 위해 완전한 배지로 보충하고 궁극적으로 이송 백에 모으고, 펠릿화하고, 재현탁하고 목표로 하는 세포 밀도로 더 큰 배양 백에 접종한다.

[0286] 완제 의약품 제제의 경우, 수거된 세포 현탁액을 부형제에 재현탁하고 제어 속도 냉동기로 냉동 보존한 다음 LN2 저장소로 옮긴다.

[0287] 제품은 동결된 상태로 임상 현장으로 운송하고, 침상에서 해동하고 정맥으로 투여한다.

[0288] 임상 시험 전에, 건강한 기증자 백혈구 채취 물질을 사용하여 모든 공정 중 및 출하 테스트를 포함하여 시험 제조 생산(engineering manufacturing run)을 수행한다. 공정 중 및 출하 테스트 외에도 이러한 시험 생산의 최종 완제의약품에 대해 규제 파일링을 뒷받침하는 연구를 수행한다. 이러한 연구는 해동 후 안정성, 장기간 안정성 개시, 성장 촉진 사이토카인의 제거를 보장하기 위한 잔류 테스트 및 잠재적 기능/효능 표시 분석의 조기 평가를 포함한다.

[0289] **실시예 15. BCMA 양성 악성 종양 치료를 위한 BCMA 특이적 T 세포-항원 커플러(TAC) 요법의 전임상 개발**

[0290] [도 27]은 TAC가 세포 상의 항원을 만날 때 증식하지만 항원이 인공 비드에 제시될 때는 증식하지 않음을 예시한다. 그러나 CAR은 항원이 비드 또는 세포에 존재하는 경우에 관계 없이 증식한다.

[0291] [도 28a] 내지 [도 28b]는 TAC 조작된 T 세포가 생체 내에서 확장되고 장기간 보호를 제공하여 골수종 모델에서 세포 지속성을 나타냄을 예시한다. [도 28a] 내지 [도 28b]는 NanoLuc(KMS 11-NanoLuc)($BCMA^{pos}$)로 조작된 KMS-11 이종 이식 모델에서 BCMA-TAC T 세포가 다발성 골수종 종양을 거부함을 예시한다. 종양 생착 후 마우스를 BCMA TAC-T 세포(반딧불이 루시퍼라제를 보유)로 처리하였다. TAC-T 세포는 투여 후 크게 확장된다. 이는 종양 퇴행과 관련된다. 처리된 마우스는 TAC-T 세포의 장기간 지속성을 나타내는 종양 재투여에 내성이 있었다.

[0292] 데이터는 TAC-T 세포가 천연 T 세포 활성화 과정을 모방하는 메커니즘을 통해 종양 세포를 파괴할 가능성이 있음을 보여준다. TAC 기술은 1) 액체에서 강력한 효능, 2) 생체 내 증식, 3) 재투여로부터 마우스를 보호하는 T 세포 지속성, 4) T 세포 투여 후 세포 확장을 예시한다.

[0293] **실시예 16. MSCV 또는 EF1α 프로모터를 사용한 hu- 또는 muIgκ HER2-TAC의 생체 내 및 시험관 내 활성.**

[0294] CD4 및 CD8 T 세포를 다양한 TAC 발현 바이러스로 조작하였다. 한 세트의 세포를 MSCV 프로모터를 사용하여 뮤린 IgG 신호 펩티드를 사용하는 HER-2에 특이적인 TAC[muIgG TAC(MSCV)]를 발현하는 렌티바이러스로 조작하였다. MSCV 프로모터를 사용하여 인간 IgG 신호 펩티드를 사용하는 HER-2에 특이적인 TAC[huIgG TAC(MSCV)]를 발현하는 렌티바이러스로 다른 세포 세트를 조작하였다. 세 번째 세트의 세포는 EF1α 프로모터를 사용하여 뮤린 IgG 신호 펩티드를 사용하는 HER-2에 특이적인 TAC[muIgG TAC(EF1)]를 발현하는 렌티바이러스로 조작하였다. 음성 대조군으로서 HER2 결합 도메인이 없는 TAC 구축물(△결합 도메인 TAC)을 사용하였다. 그런 다음 조작된 세포를 재표면 발현 및 특이적 활성에 대해 시험관 내에서 그리고 OVCAR3 HER2 양성 고형 종양 모델에서의 활성에 대해 생체 내에서 특성화하였다.

[0295] [도 30]은 MCSV 또는 EF1α 프로모터의 제어하에 인간 또는 뮤린 IgG 리더 HER2 TAC 수용체의 T 세포 표면 발현을 예시한다. 표면 발현은 생물학적 활성의 주요 요건이며 이는 HER2 TAC 수용체 발현이 IgG 신호 펩티드의 종 공급원에 의해 영향을 받지 않음을 보여준다.

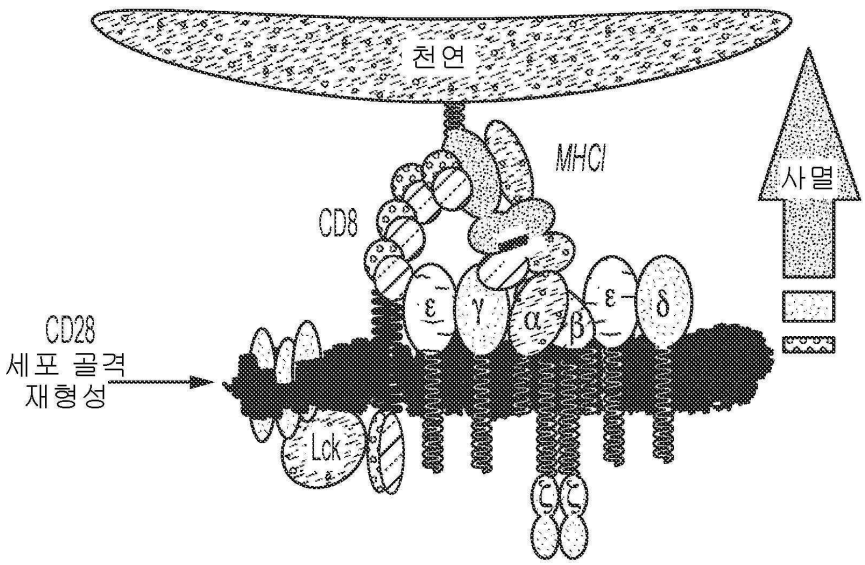
[0296] [도 31]은 MCSV 또는 EF1α 프로모터의 제어하에 인간 또는 뮤린 IgG 리더 HER2 TAC 구축물로 조작된 T 세포가 HER2 양성 표적 세포(OVCAR3)와 공동 배양될 때 사이토카인 생산을 유도하고 HER2 음성 세포(LOX IMVI)와는 그렇지 않음을 입증한다. 이는 HER2 TAC 수용체 조작된 T 세포가 HER2 발현 표적 세포와 특이적으로 결합할 수 있지만 항원 음성 세포에 대해서는 비반응성임을 예시한다.

[0297] [도 32]는 MCSV 또는 EF1α 프로모터의 제어하에 인간 또는 뮤린 IgG 리더 HER2 TAC 구축물의 생체 내 효능을 입증한다. 조작된 T 세포의 분할 용량 투여 후, HER2 TAC 조작된 세포는 음성 대조군 △결합 TAC에 비해 종양 퇴행을 포함하여 종양 성장에 상당한 영향을 미친다. 이 생체 내 실험은 모든 HER2 TAC 조작된 세포가 생체 내 고형 종양 모델에 대해 상당한 활성을 보인다는 것을 입증해준다.

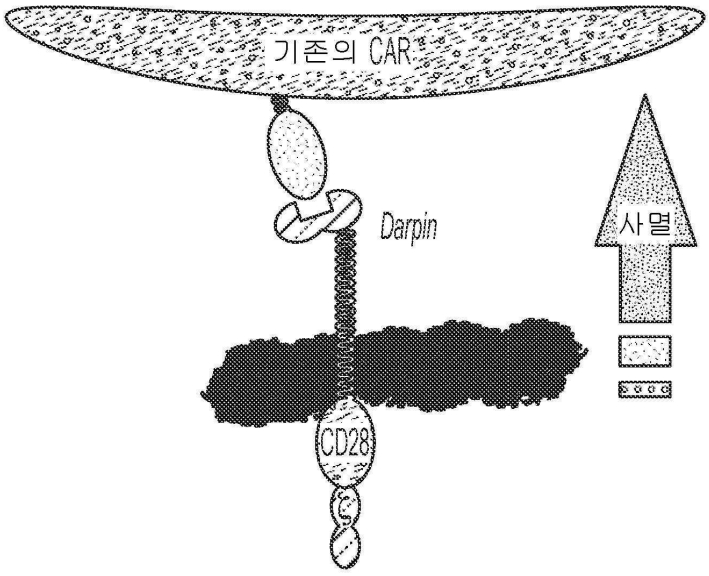
[0298] 본 발명의 바람직한 실시 양태가 본원에 도시되고 설명되었지만, 이러한 실시 양태는 단지 예로서 제공된다는 것은 당업자에게 명백할 것이다. 이제 본 발명에서 벗어나지 않고 많은 변형, 변경, 및 대체를 당업자가 생각해 낼 것이다. 본원에 기술된 본 발명의 실시 양태에 대한 다양한 대안이 본 발명을 실시하는 데 사용될 수 있음을 이해해야 한다. 다음의 청구 범위는 본 발명의 범위를 정의하고, 이러한 청구 범위의 범주 내의 방법 및 구조 및 그 균등물이 이에 의해 포함되는 것으로 의도된다.

도면

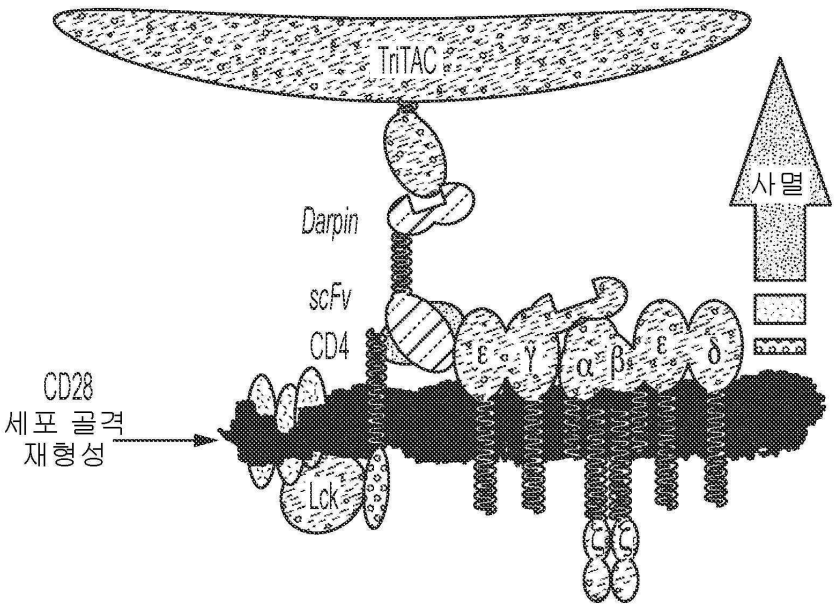
도면1a


천연
MHCI
CD8
사멸
CD28
세포 골격
재형성
ε
γ
α
β
ε
δ
Lck

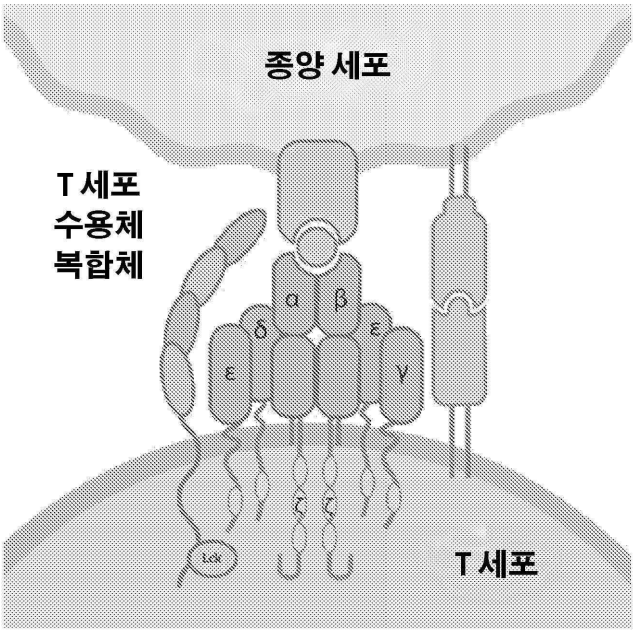
도면1b


기존의 CAR
Darpin
사멸
CD28
ζ

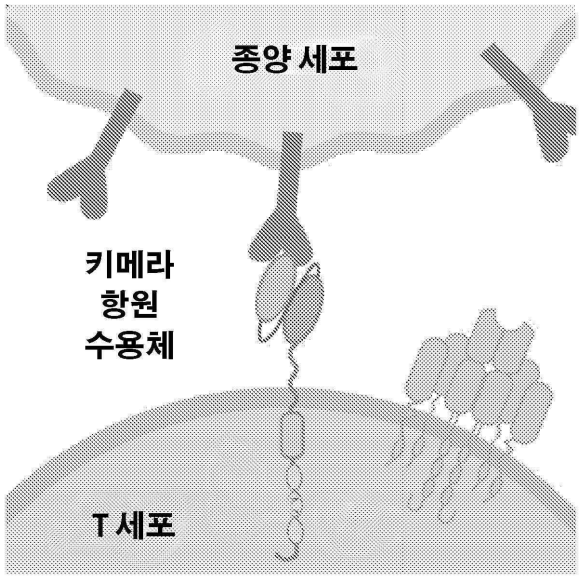
도면1c


TriTAC
Darpin
scFv
CD4
CD28
세포 골격
재형성
Lck
사멸
ε
γ
α
β
ε
δ

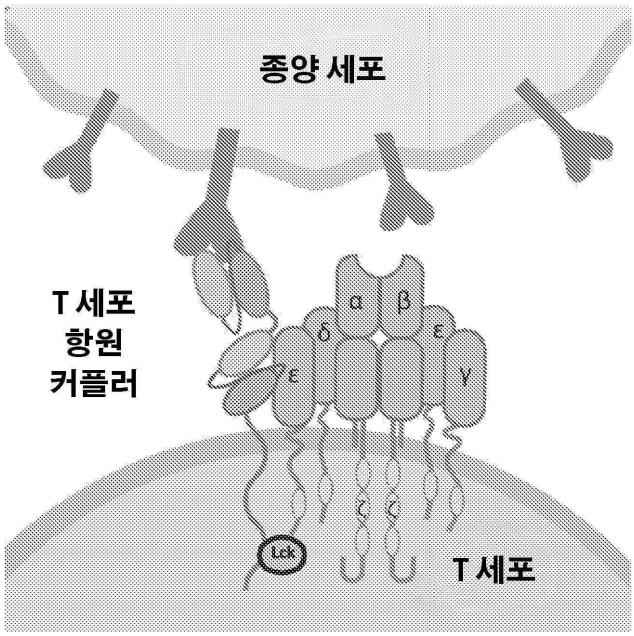
도면1d


종양 세포
T 세포
수용체
복합체
α
β
δ
ε
ε
γ
ζ
ζ
Lck
T 세포

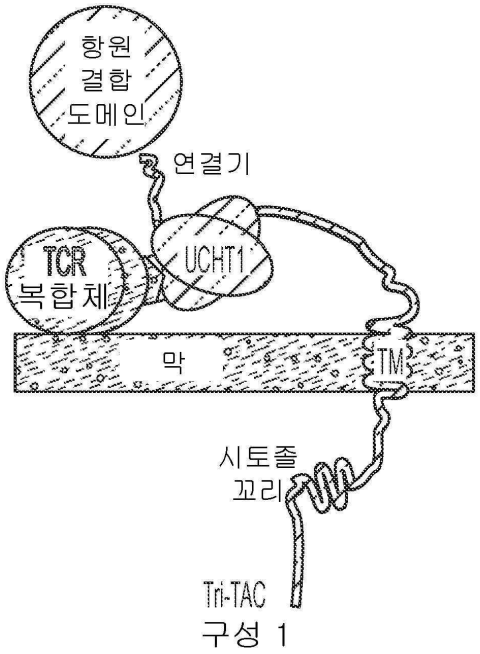
도면1e



도면1f

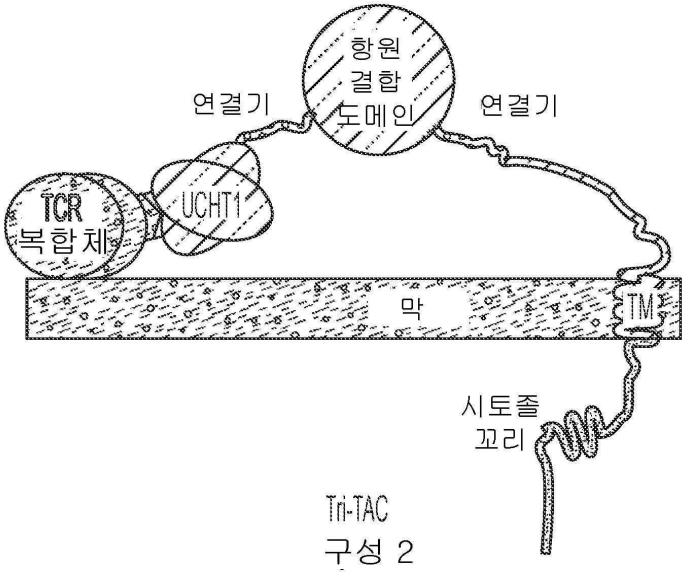


도면2a



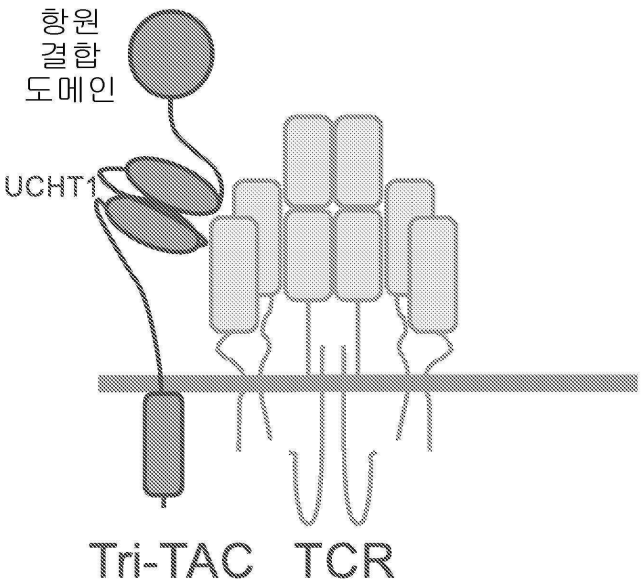
구성 1

도면2b

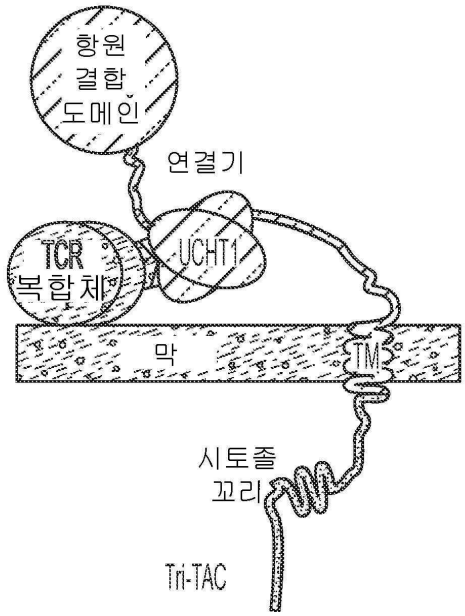


구성 2

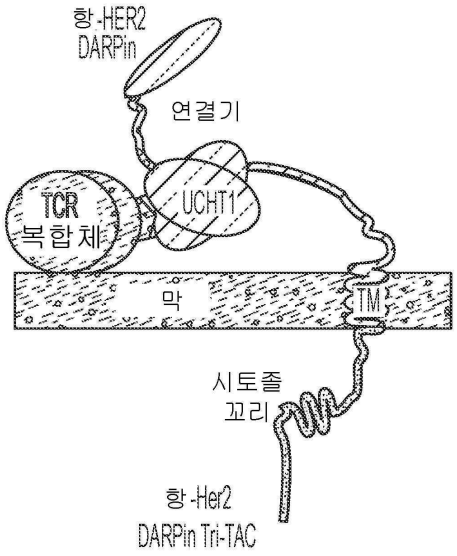
도면2c


항원
결합
도메인
UCHT1
Tri-TAC
TCR

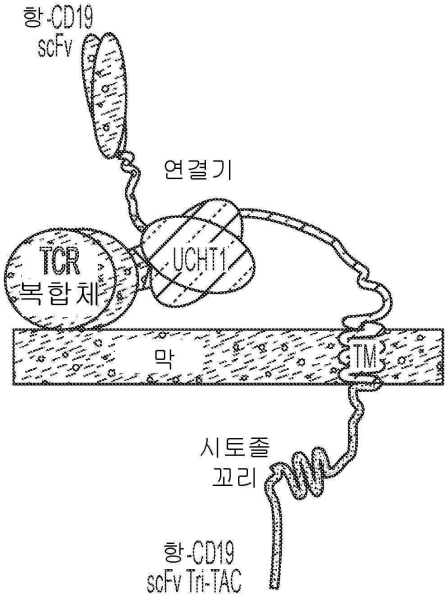
도면3a


항원
결합
도메인
연결기
TCR
복합체
UCHT1
막
TM
시토졸
꼬리
Tri-TAC

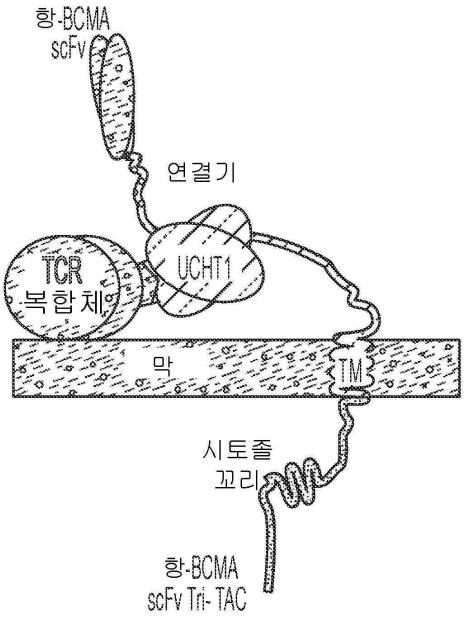
도면3b


항-HER2
DARPin
연결기
TCR
복합체
UCHT1
막
TM
시토졸
꼬리
항-Her2
DARPin Tri-TAC

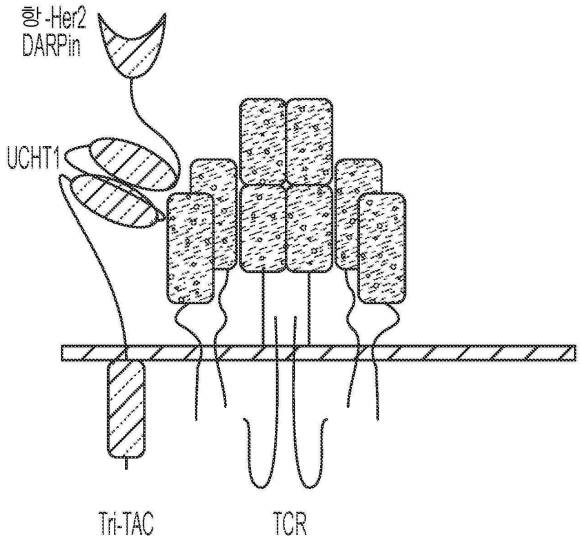
도면3c


항-CD19
scFv
연결기
TCR
복합체
UCHT1
막
TM
시토졸
꼬리
항-CD19
scFv Tri-TAC

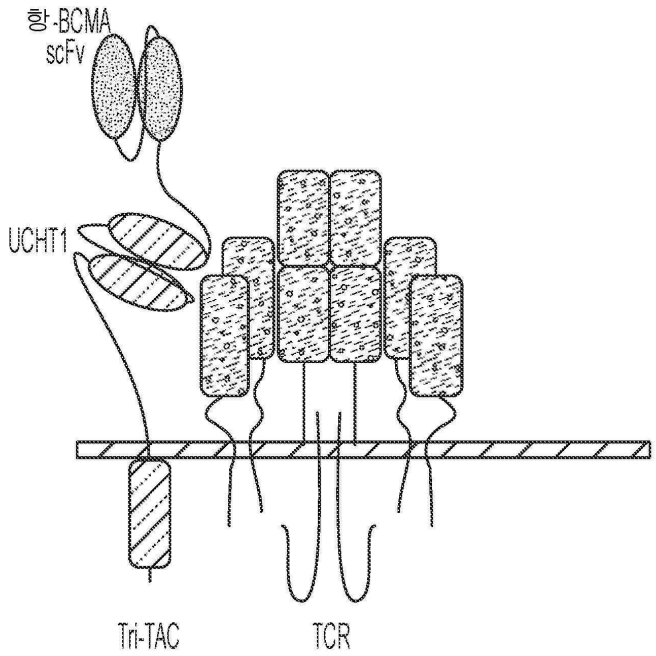
도면3d


항-BCMA
scFv
연결기
TCR
복합체
UCHT1
막
TM
시토졸
꼬리
항-BCMA
scFv Tri-TAC

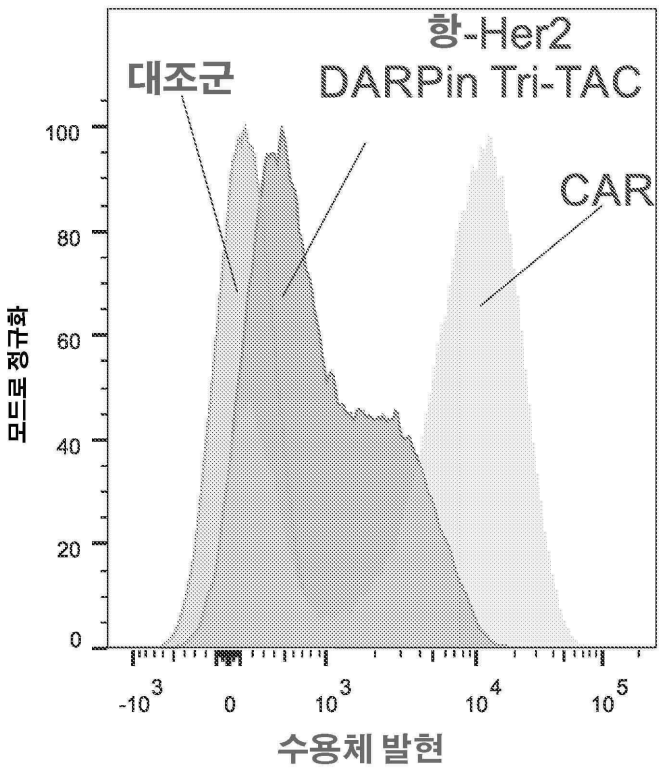
도면3e


항-Her2
DARPin
UCHT1
Tri-TAC
TCR

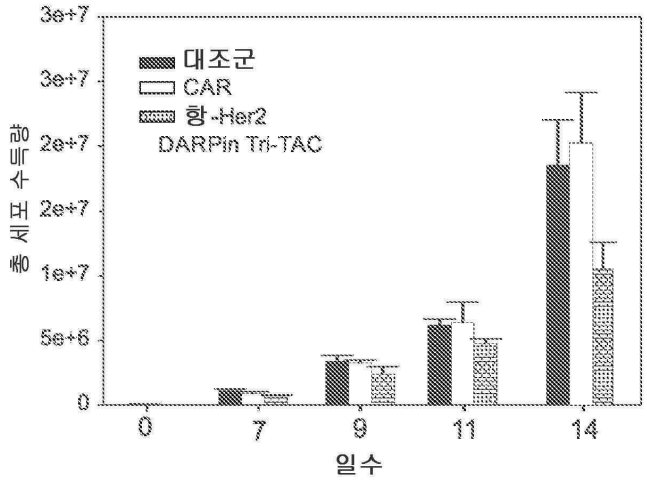
도면3f


항-BCMA
scFv
UCHT1
Tri-TAC
TCR

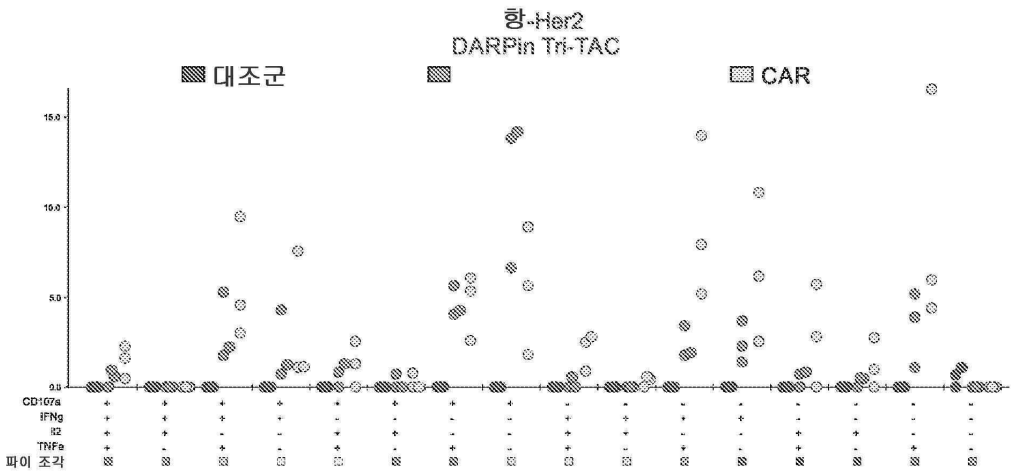
도면4a


항-Her2
DARPin Tri-TAC
대조군
CAR
모드로 정규화
100
80
60
40
20
0
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
수용체 발현

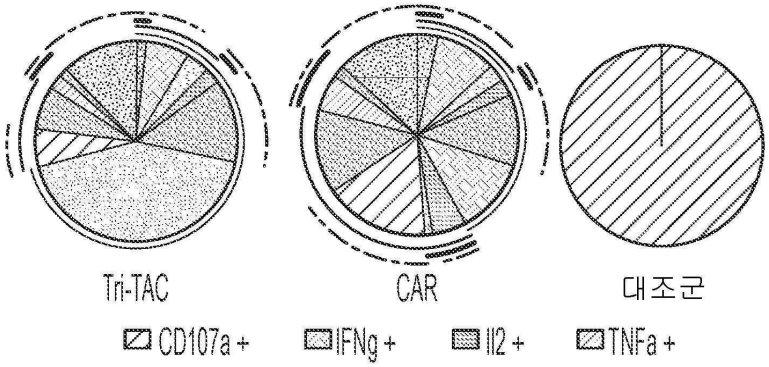
도면4b



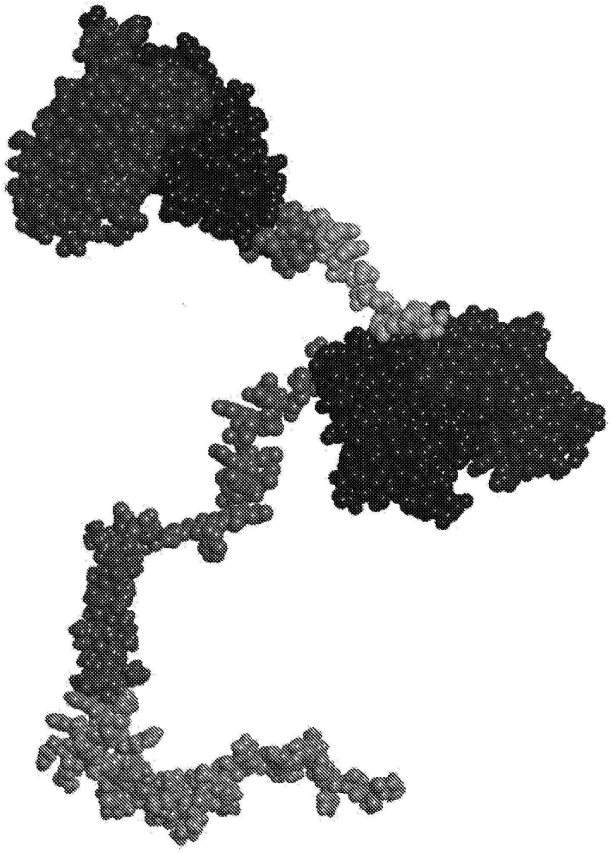
도면4c



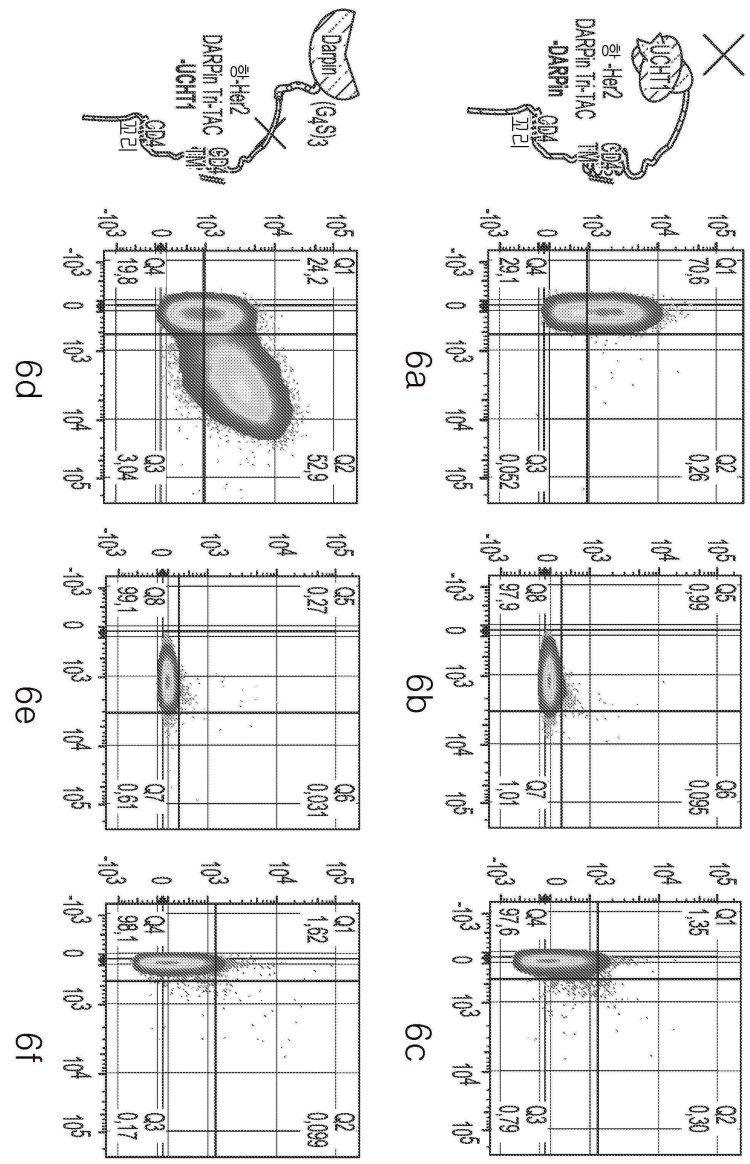
도면4d



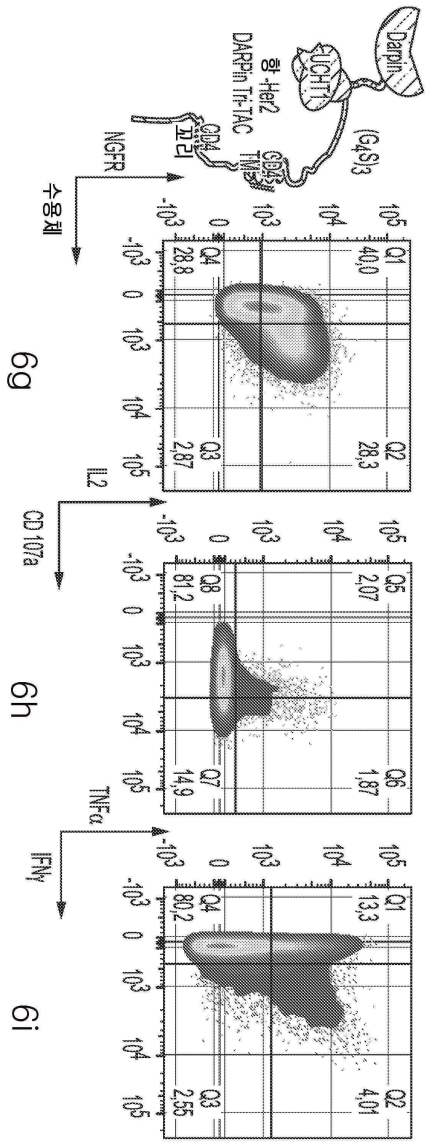
도면5



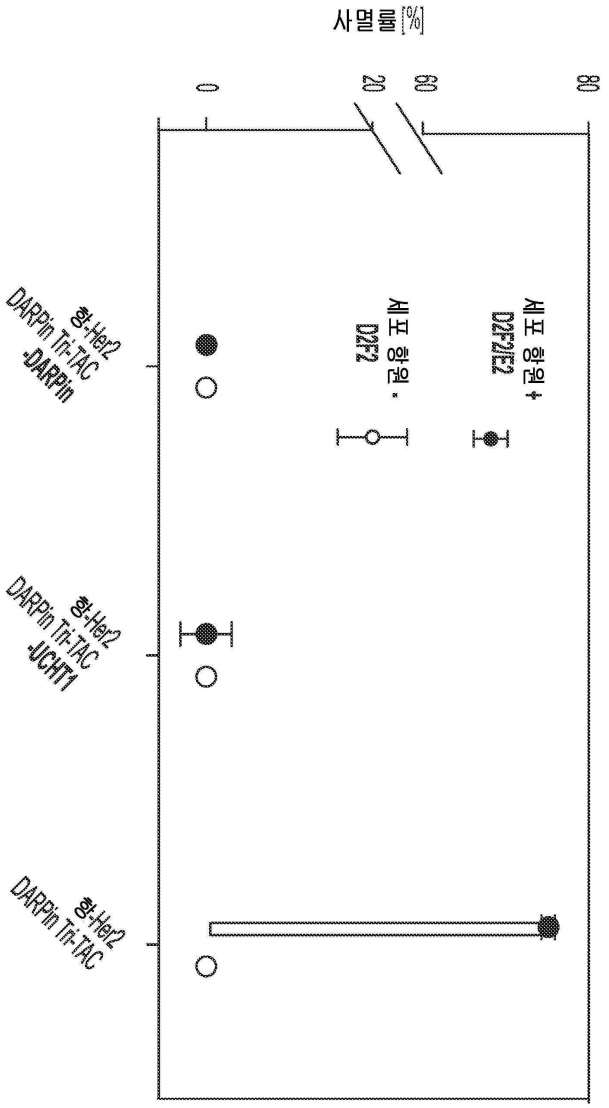
도면6af


6a
6b
6c
6d
6e
6f
UCHT1
anti-Her2
DARPin Tri-TAC
-DARPin
CD45
TM
CD4
꼬리
Darpin
(G4S)3
-UCHT1
Q1 70,6
Q2 0,26
Q3 0,052
Q4 29,1
Q5 0,99
Q6 0,096
Q7 1,01
Q8 97,9
Q1 1,35
Q2 0,30
Q3 0,79
Q4 97,6
Q1 24,2
Q2 52,9
Q3 3,04
Q4 19,8
Q5 0,27
Q6 0,031
Q7 0,61
Q8 99,1
Q1 1,62
Q2 0,009
Q3 0,17
Q4 98,1

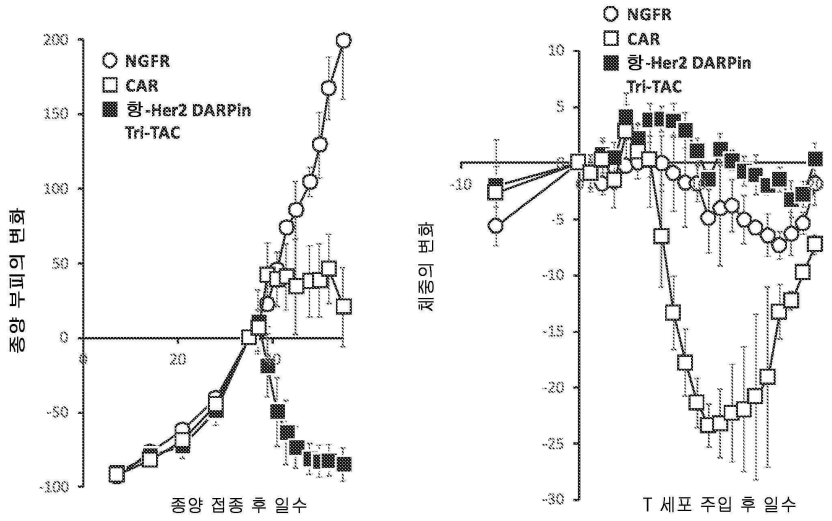
도면6gi


6g
6h
6i
수용체
NGFR
IL2
CD 107a
TNFα
IFNγ
DARPin
UCHT1
(G4S)3
항-Her2
DARPin Tri-TAC
CD4
L21
CD3
TM3
Q1 40.0
Q2 28.3
Q3 2.87
Q4 28.8
Q5 2.07
Q6 1.87
Q7 14.9
Q8 81.2
Q1 13.3
Q2 4.01
Q3 2.55
Q4 80.2

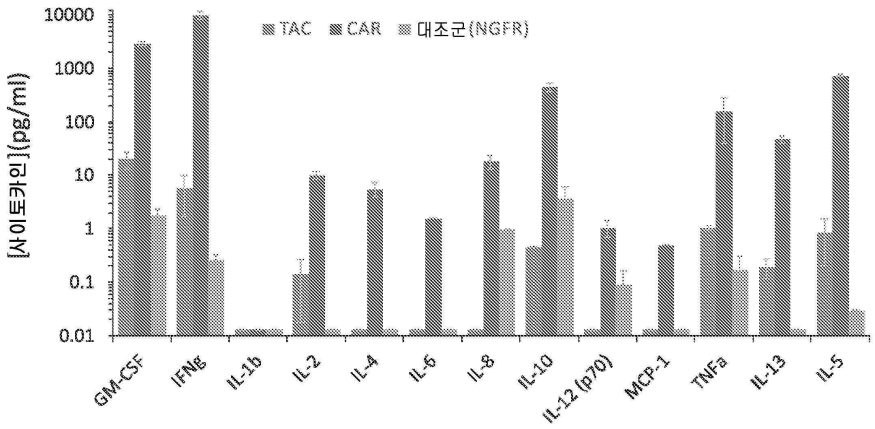
도면6j


사멸률[%]
0
20
60
80
항-Her2 DARPin Tri-TAC -DARPin
항-Her2 DARPin Tri-TAC -UCHT1
항-Her2 DARPin Tri-TAC
세포 없음 - 혈구 D2F2
세포 없음 + 혈구 D2F2

도면7

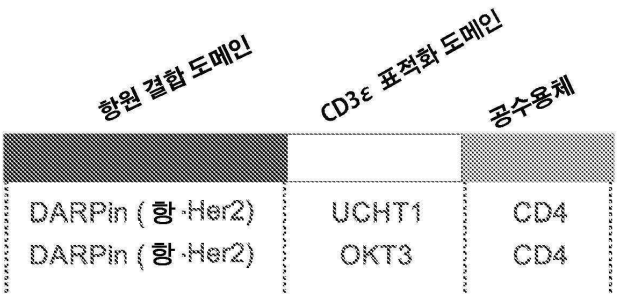


7a 7b

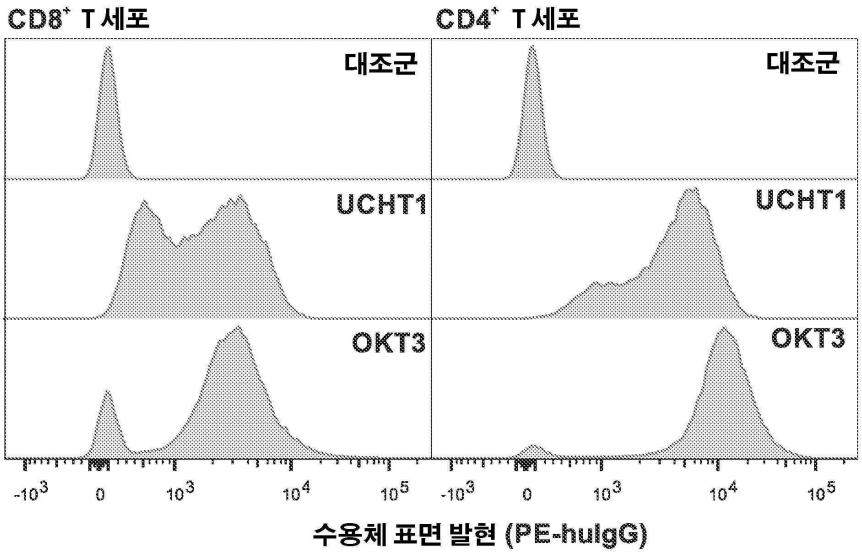


7c

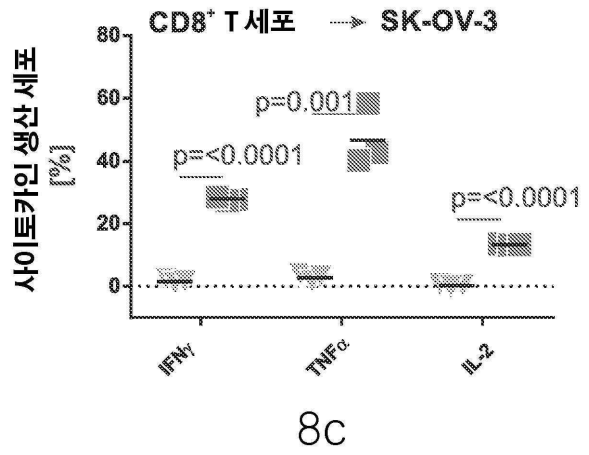
도면8a



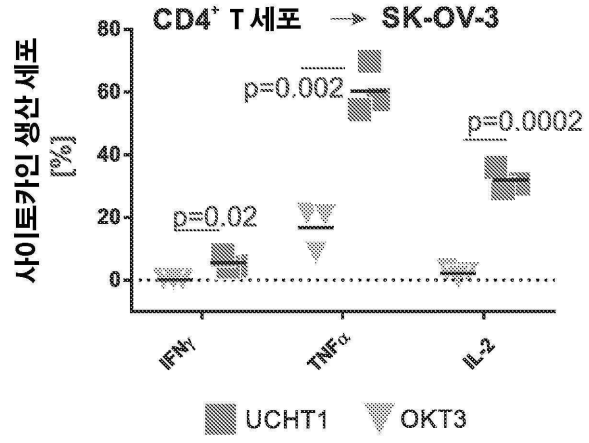
도면8b



도면8c

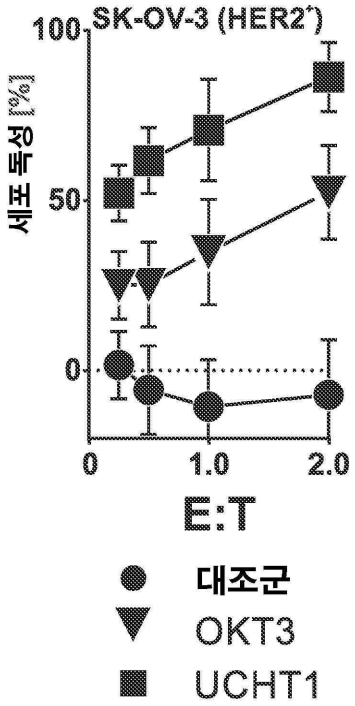


8c

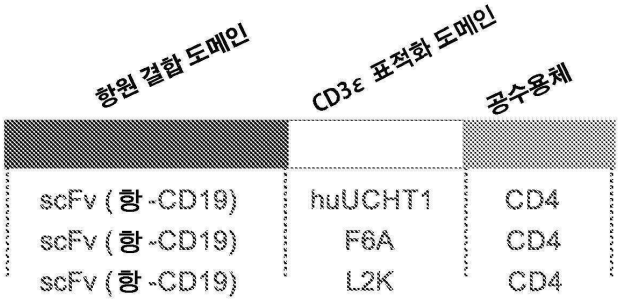


8c1

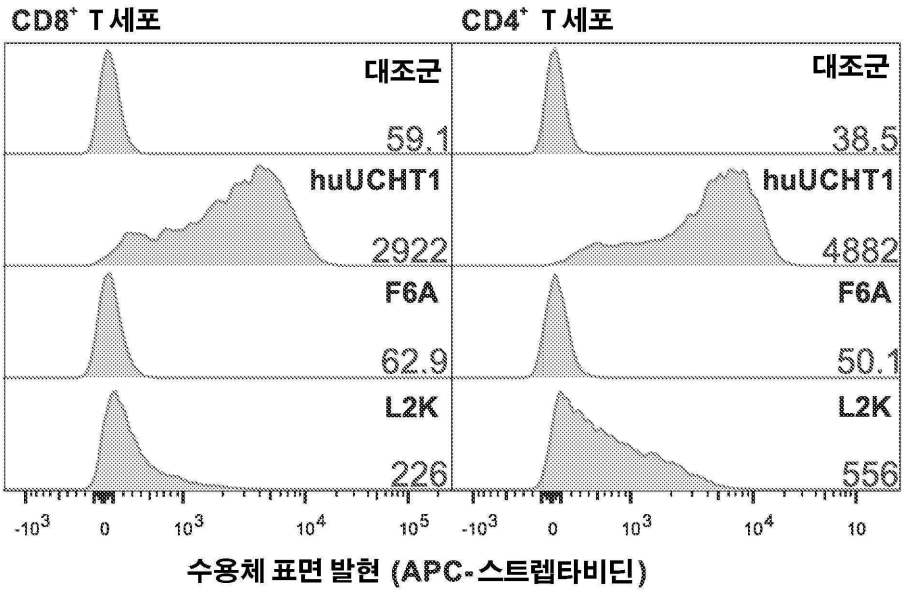
도면8d


SK-OV-3 (HER2+)
100
50
0
세포 독성 [%]
0
1.0
2.0
E:T
대조군
OKT3
UCHT1

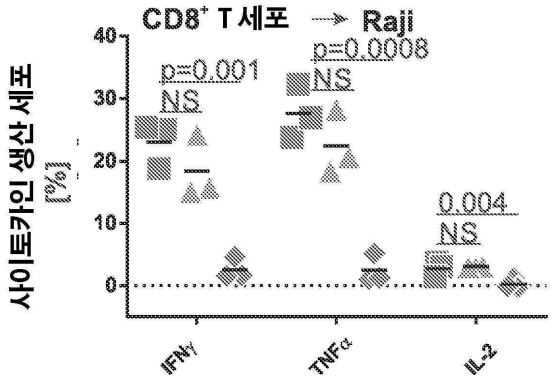
도면8e


항원 결합 도메인
CD3ε 표적화 도메인
공수용체
scFv (항-CD19)
scFv (항-CD19)
scFv (항-CD19)
huUCHT1
F6A
L2K
CD4
CD4
CD4

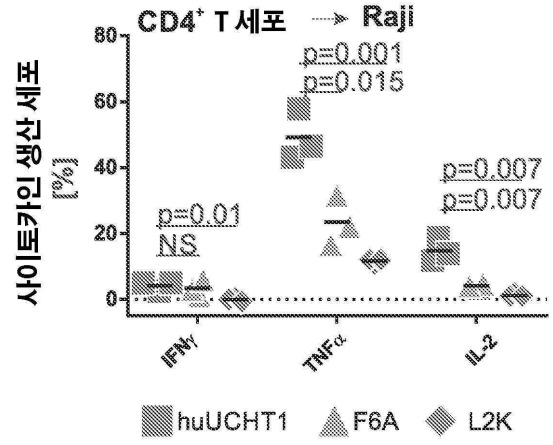
도면8f



도면8g

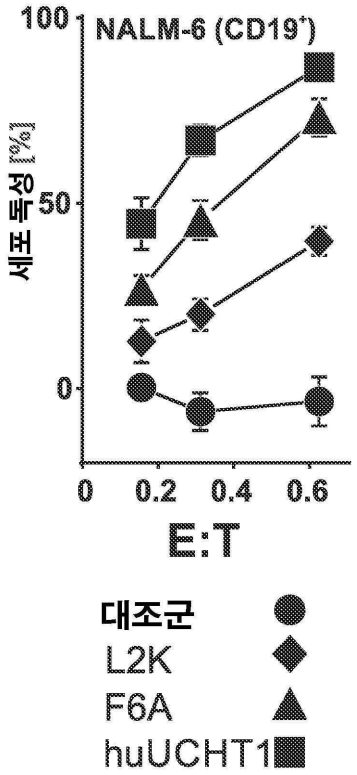


8g

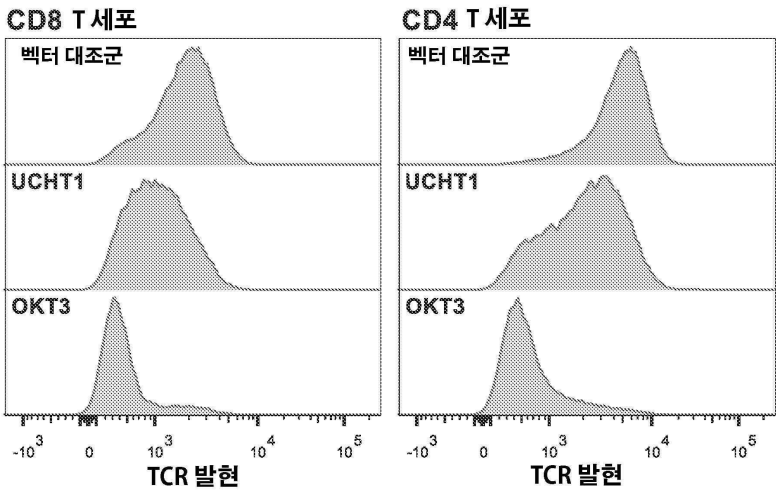


8g1

도면8h

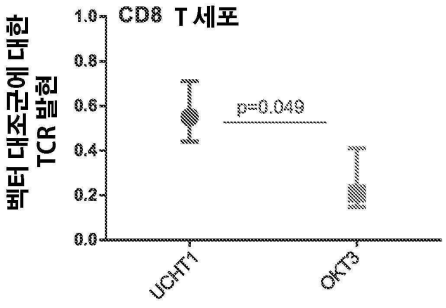


도면9af

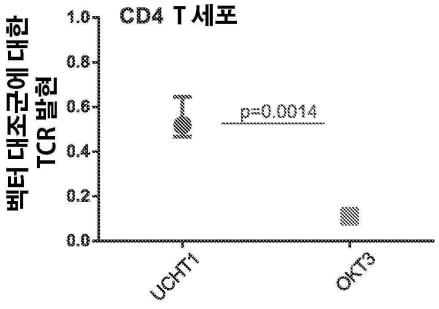


9a

9e

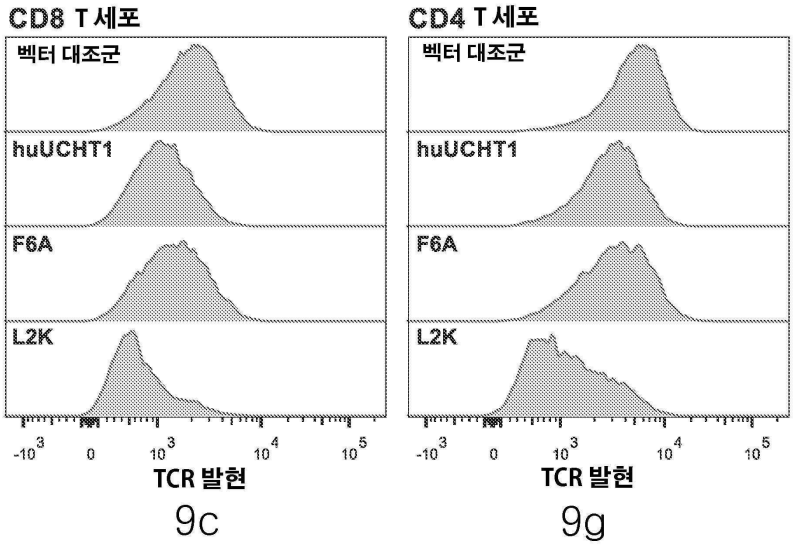


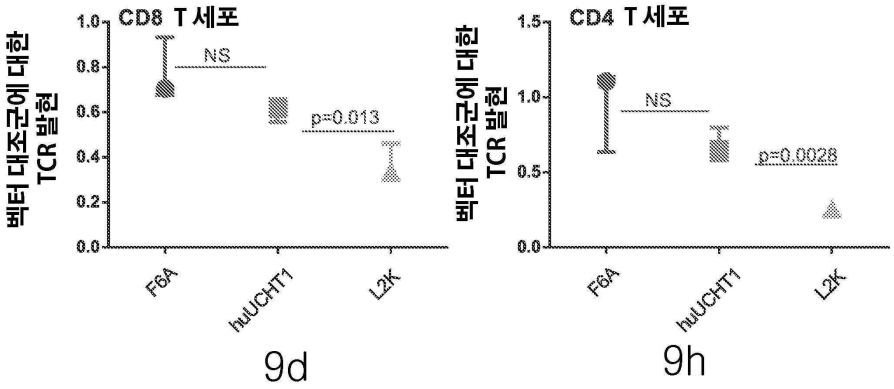
9b



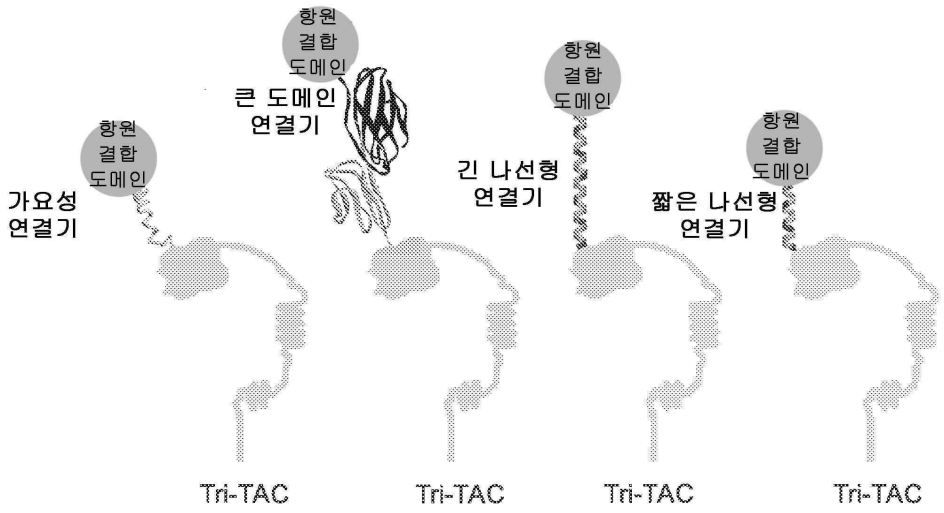
9f

도면9ch


CD8 T 세포
CD4 T 세포
벡터 대조군
huUCHT1
F6A
L2K
TCR 발현
9c
9g


CD8 T 세포
CD4 T 세포
벡터 대조군에 대한 TCR 발현
NS
p=0.013
p=0.0028
F6A
huUCHT1
L2K
9d
9h

도면10a


항원 결합 도메인
큰 도메인 연결기
가요성 연결기
긴 나선형 연결기
짧은 나선형 연결기
Tri-TAC

도면10b

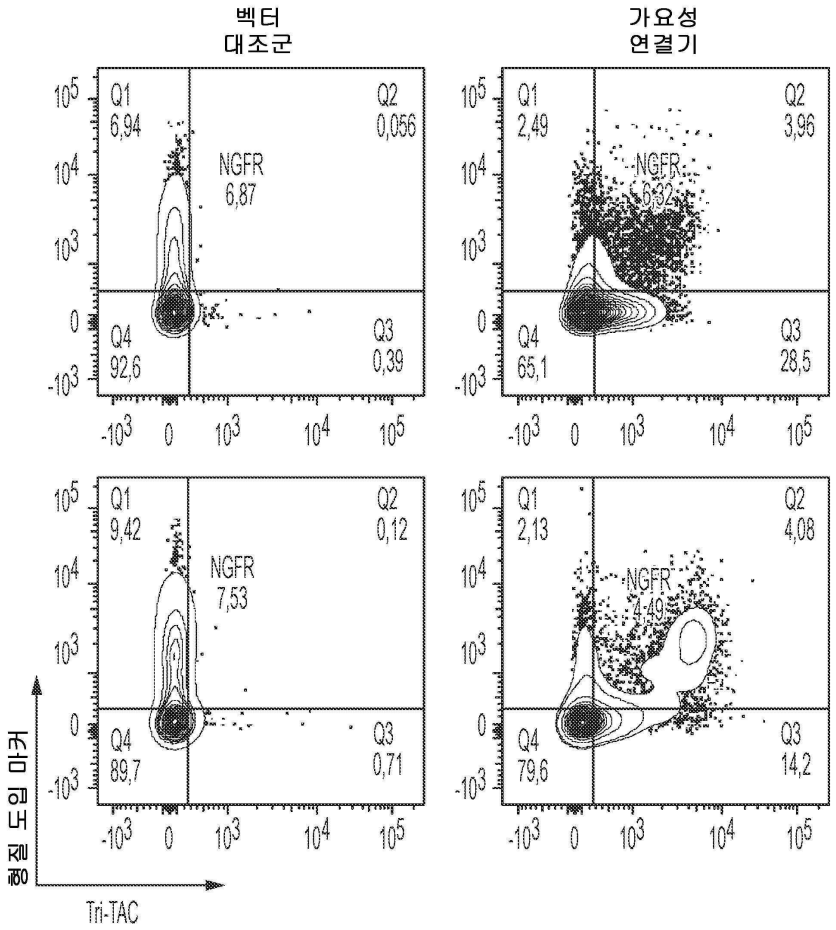
가요성 연결기
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

짧은 나선형 연결기
AEAAAKEAAAKEAAAKA

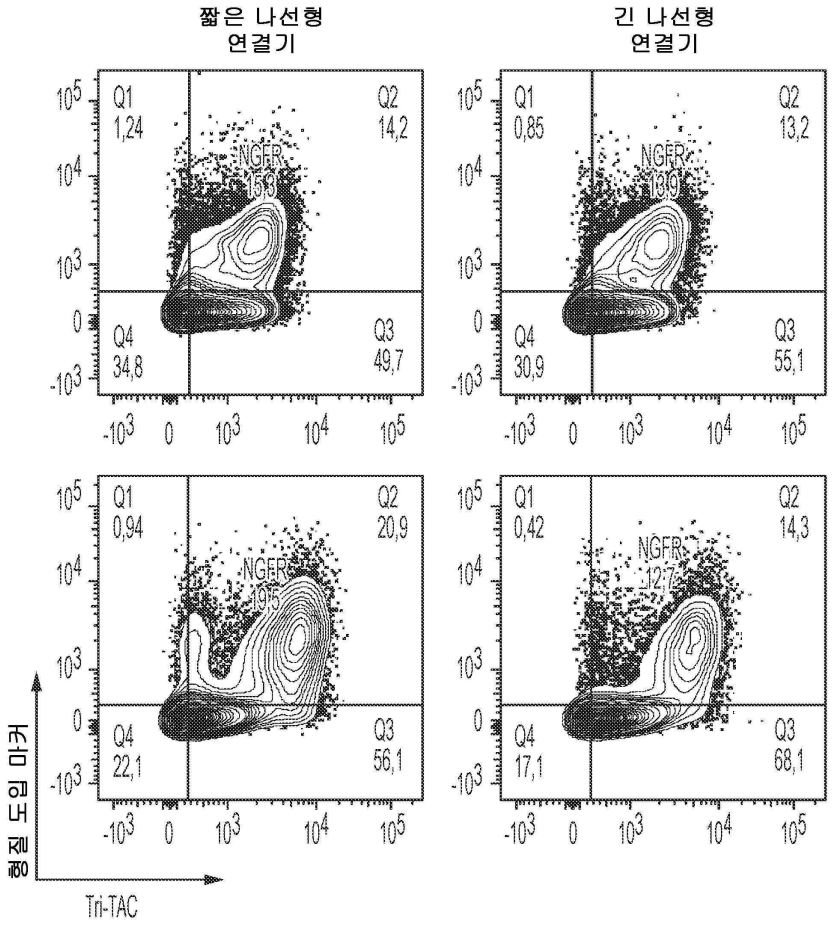
긴 나선형 연결기
AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKA

큰 도메인 연결기
IVVLAFQKASSIVYKKEGEQVEFSFPLAFTVEKLTGSGELWWQAERASSSKSWITFDLKNKE
VSVKRVTQDPKLQMGKKLPLHLTLPQALPQYAGSGNLTLALEAKTGKLHQEVNLVVMRATQ
LQKNLTCEVWGPTSPKLMLSLKLENKEAKVSKREKAVWVLNPEAGMWQCLLSDSGQVLLE
SNIKVLPAA

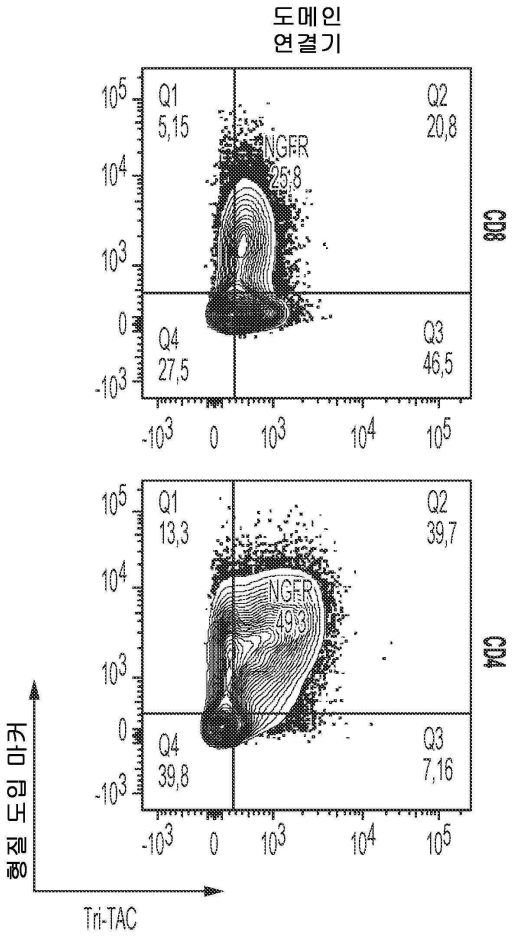
도면11a



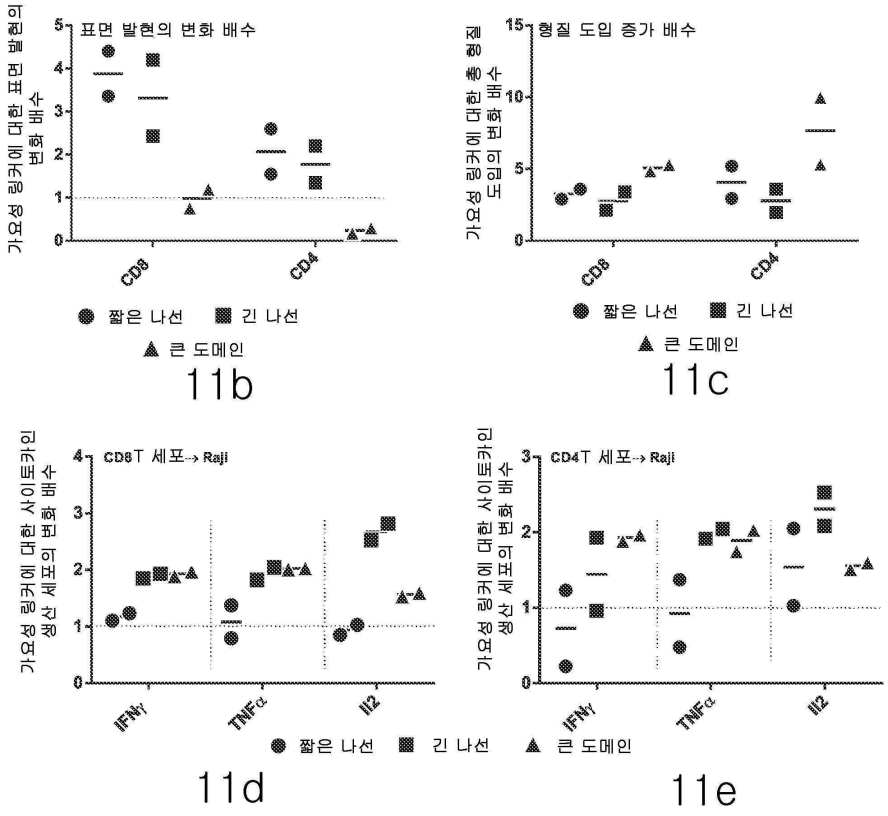
도면11aa


짧은 나선형
연결기
긴 나선형
연결기
Q1
1,24
Q2
14,2
NGFR
15,3
Q4
34,8
Q3
49,7
Q1
0,85
Q2
13,2
NGFR
13,9
Q4
30,9
Q3
55,1
Q1
0,94
Q2
20,9
NGFR
19,5
Q4
22,1
Q3
56,1
Q1
0,42
Q2
14,3
NGFR
12,7
Q4
17,1
Q3
68,1
형질 도입 마커
Tri-TAC

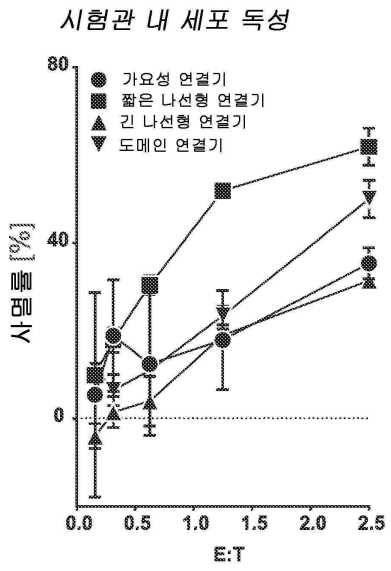
도면11aaa


도메인
연결기
Q1
5,15
Q2
20,8
NGFR
25,8
CD8
Q4
27,5
Q3
46,5
Q1
13,3
Q2
39,7
NGFR
49,3
CD4
Q4
39,8
Q3
7,16
형질 도입 마커
Tri-TAC

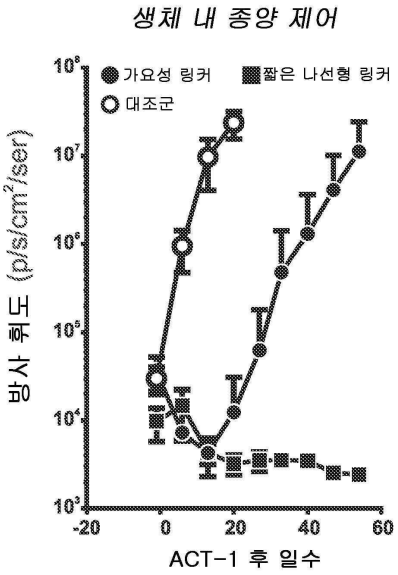
도면11be



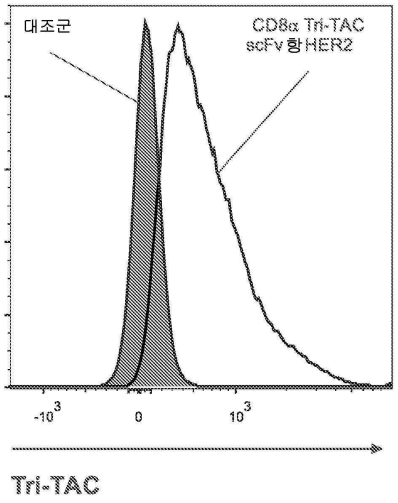
도면12a



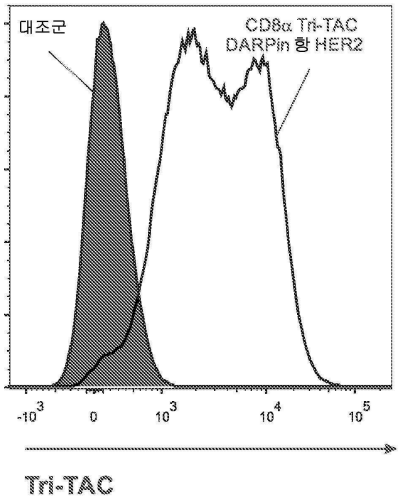
도면12b


생체 내 종양 제어
가요성 링커
짧은 나선형 링커
대조군
방사 휘도 (p/s/cm²/ser)
10⁸
10⁷
10⁶
10⁵
10⁴
10³
-20
0
20
40
60
ACT-1 후 일수

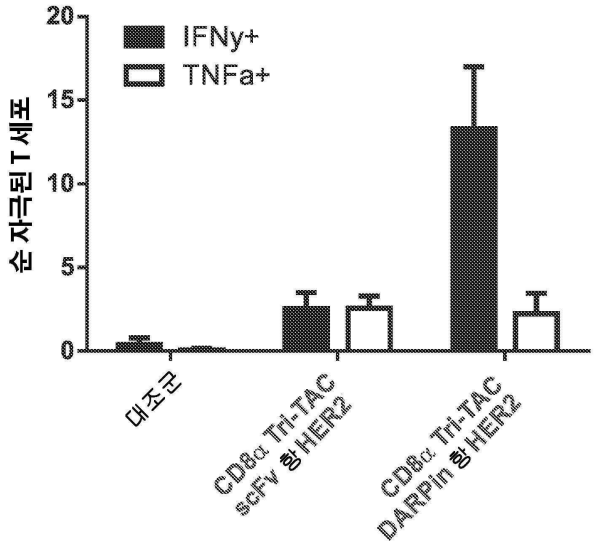
도면13



13a

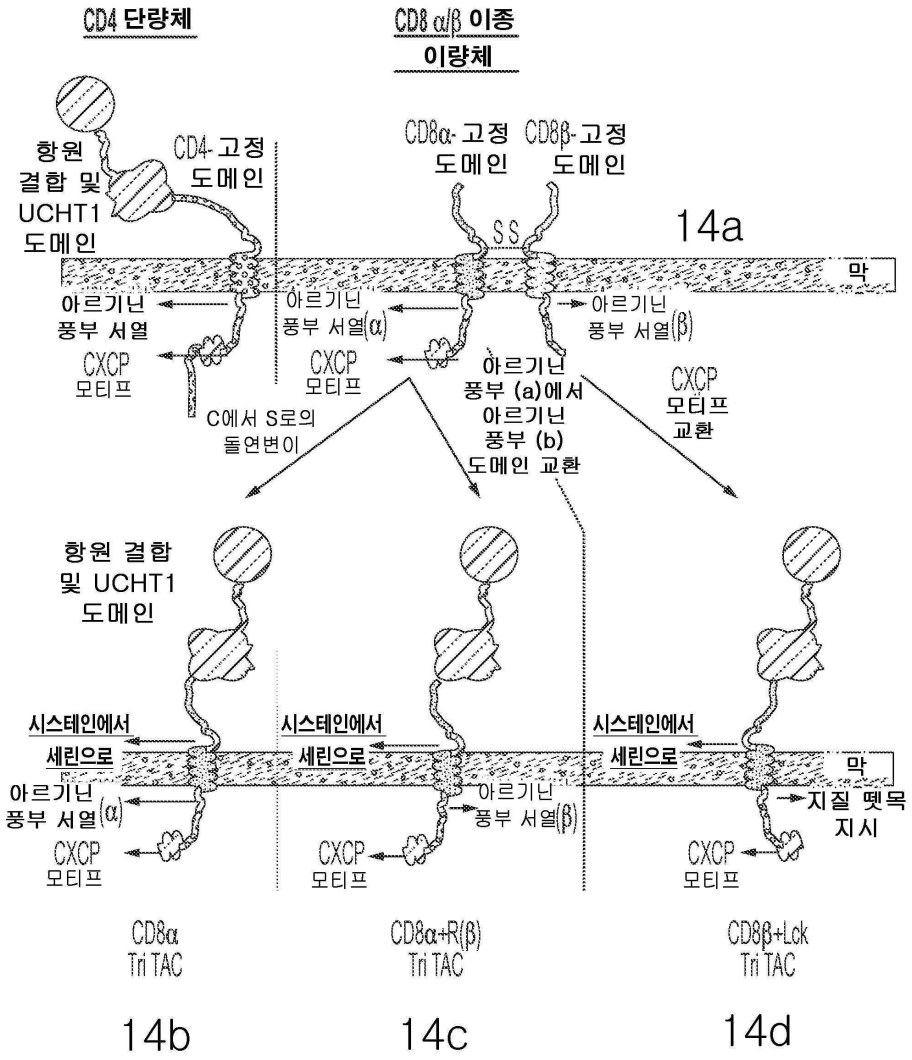


13c

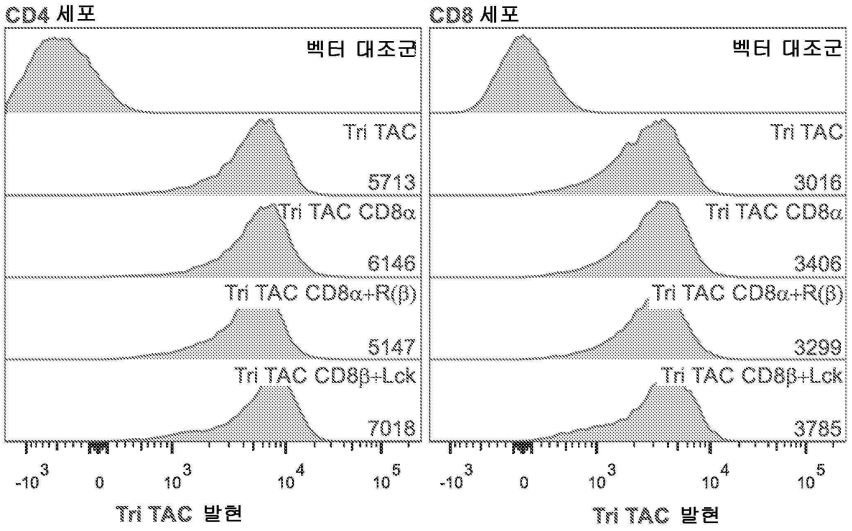


13b

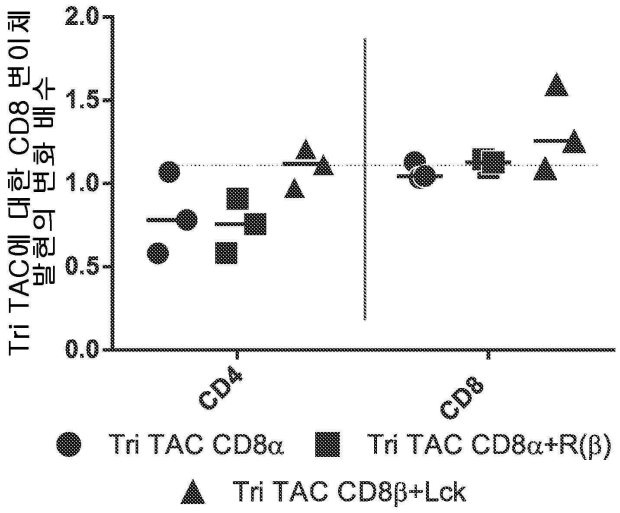
도면14


CD4 단량체
CD8 α/β 이종 이량체
항원 결합 및 UCHT1 도메인
CD4-고정 도메인
CD8α-고정 도메인
CD8β-고정 도메인
S S
14a
막
아르기닌 풍부 서열
CXCP 모티프
아르기닌 풍부 서열(α)
아르기닌 풍부 서열(β)
C에서 S로의 돌연변이
아르기닌 풍부 (a)에서 아르기닌 풍부 (b) 도메인 교환
CXCP 모티프 교환
항원 결합 및 UCHT1 도메인
시스테인에서 세린으로
지질 뗏목 지시
CD8α Tri TAC
CD8α+R(β) Tri TAC
CD8β+Lck Tri TAC
14b
14c
14d

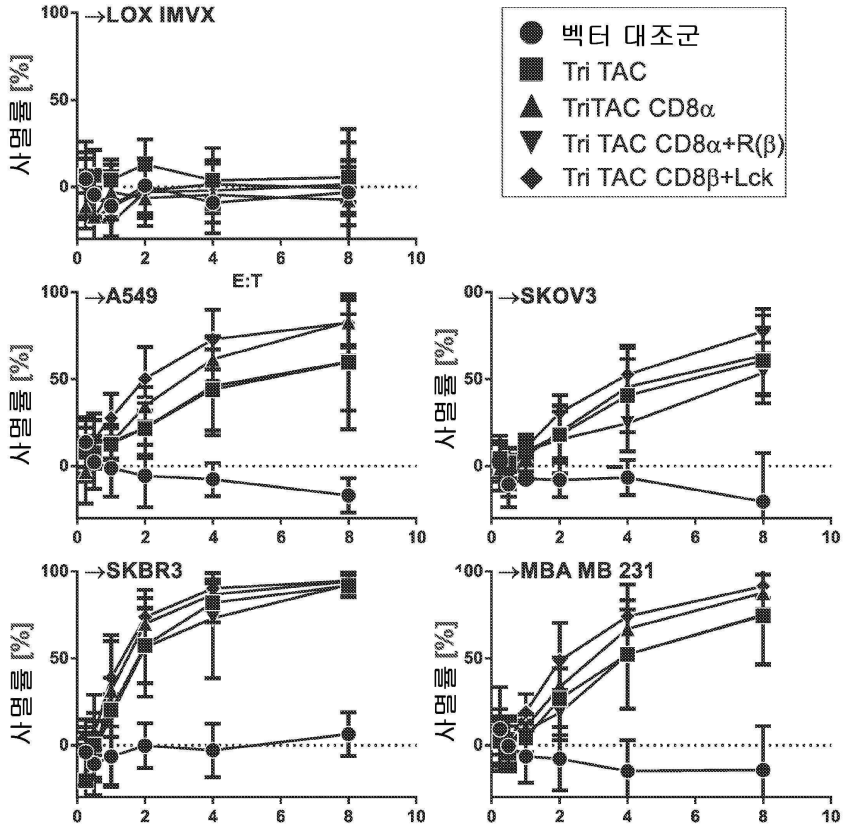
도면15a


CD4 세포
CD8 세포
벡터 대조군
Tri TAC
5713
3016
Tri TAC CD8α
6146
3406
Tri TAC CD8α+R(β)
5147
3299
Tri TAC CD8β+Lck
7018
3785
-10^3
0
10^3
10^4
10^5
Tri TAC 발현

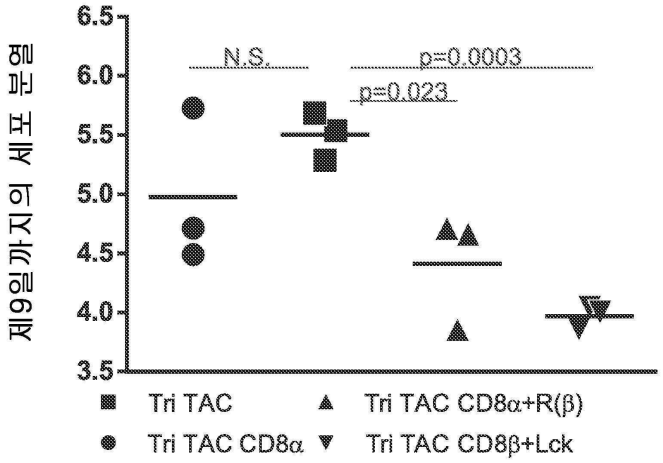
도면15b


Tri TAC에 대한 CD8 변이체 발현의 변화 배수
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
CD4
CD8
Tri TAC CD8α
Tri TAC CD8α+R(β)
Tri TAC CD8β+Lck

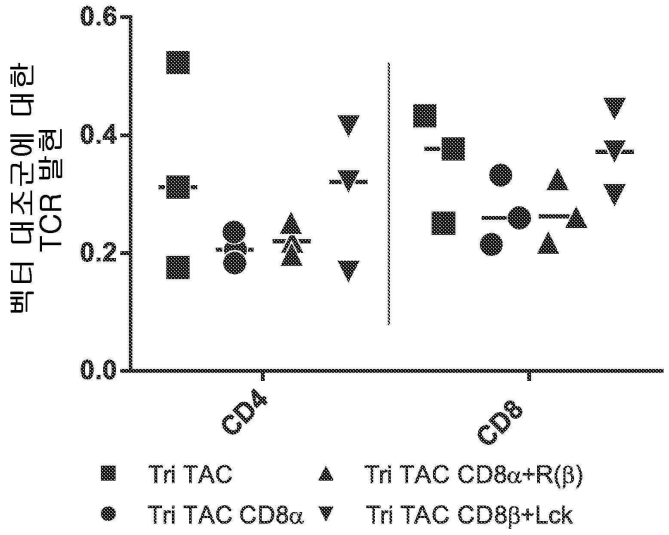
도면15c


→LOX IMVX
→A549
→SKOV3
→SKBR3
→MBA MB 231
사멸률 [%]
E:T
벡터 대조군
Tri TAC
TriTAC CD8α
Tri TAC CD8α+R(β)
Tri TAC CD8β+Lck

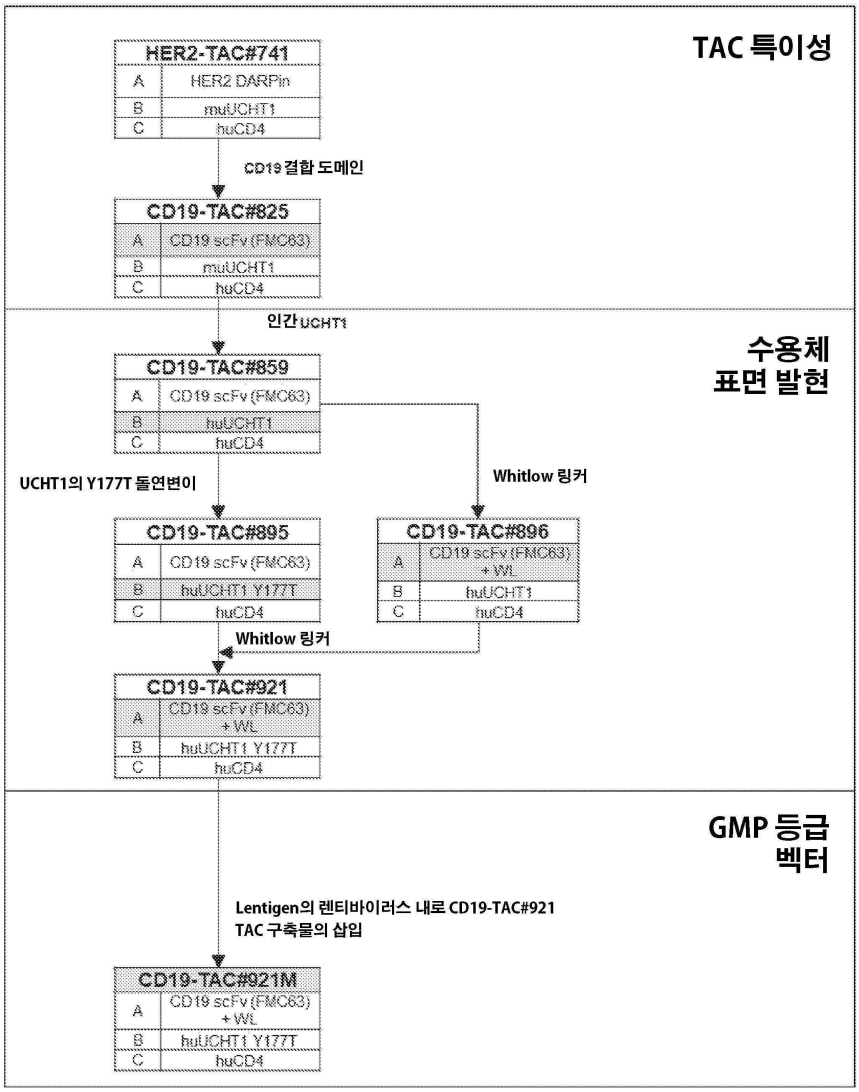
도면15d


제9일까지의 세포 분열
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
N.S.
p=0.0003
p=0.023
Tri TAC
Tri TAC CD8α
Tri TAC CD8α+R(β)
Tri TAC CD8β+Lck

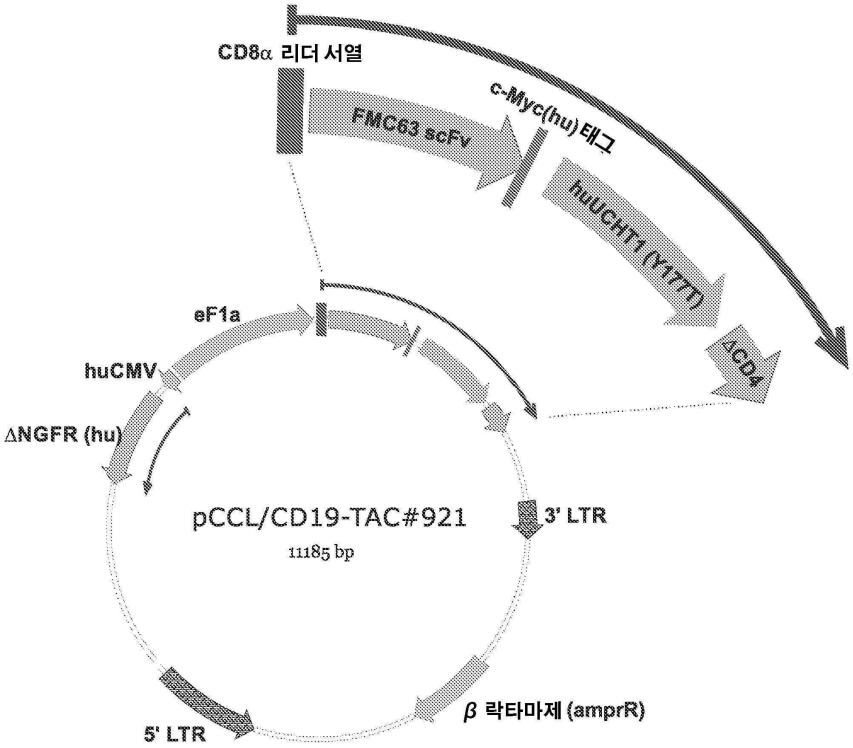
도면15e


벡터 대조군에 대한 TCR 발현
0.6
0.4
0.2
0.0
CD4
CD8
Tri TAC
Tri TAC CD8α
Tri TAC CD8α+R(β)
Tri TAC CD8β+Lck

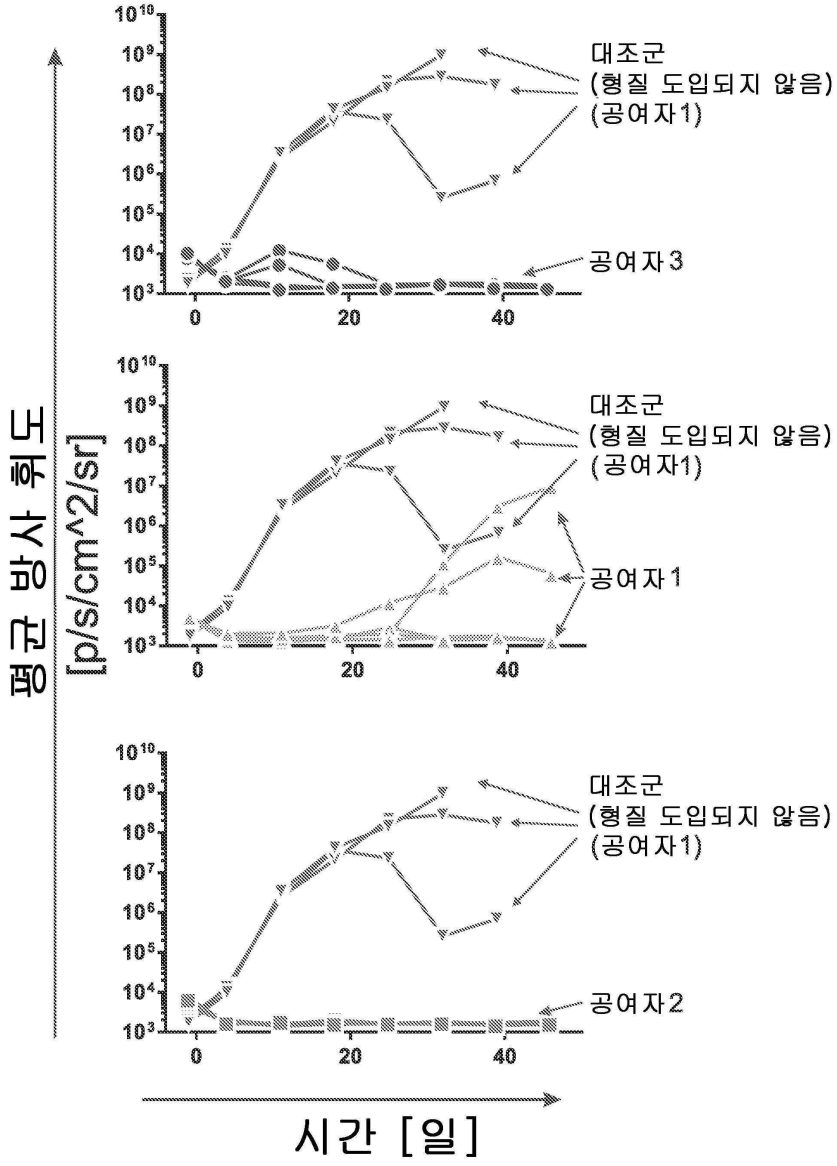
도면16


TAC 특이성
HER2-TAC#741
A HER2 DARPin
B muUCHT1
C huCD4
CD19 결합 도메인
CD19-TAC#825
A CD19 scFv (FMC63)
B muUCHT1
C huCD4
인간 UCHT1
수용체
표면 발현
CD19-TAC#859
A CD19 scFv (FMC63)
B huUCHT1
C huCD4
Whitlow 링커
UCHT1의 Y177T 돌연변이
CD19-TAC#895
A CD19 scFv (FMC63)
B huUCHT1 Y177T
C huCD4
CD19-TAC#896
A CD19 scFv (FMC63) + WL
B huUCHT1
C huCD4
Whitlow 링커
CD19-TAC#921
A CD19 scFv (FMC63) + WL
B huUCHT1 Y177T
C huCD4
GMP 등급
벡터
Lentigen의 렌티바이러스 내로 CD19-TAC#921
TAC 구축물의 삽입
CD19-TAC#921M
A CD19 scFv (FMC63) + WL
B huUCHT1 Y177T
C huCD4

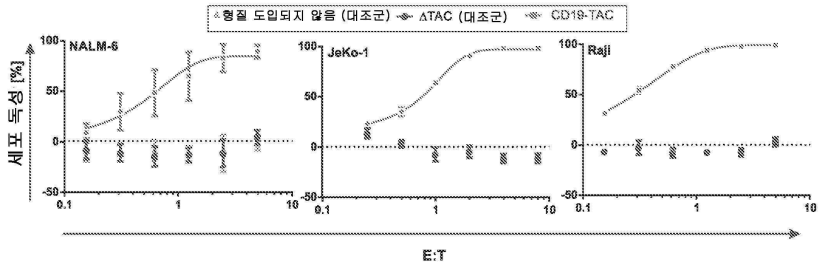
도면17


CD8α 리더 서열
FMC63 scFv
c-Myc(hu) 태그
huUCHT1 (Y177T)
ΔCD4
eF1a
huCMV
ΔNGFR (hu)
pCCL/CD19-TAC#921
11185 bp
3' LTR
5' LTR
β 락타마제 (amprR)

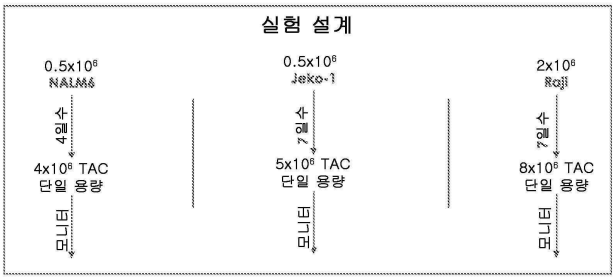
도면18


평균 방사 휘도
[p/s/cm^2/sr]
대조군
(형질 도입되지 않음)
(공여자1)
공여자3
대조군
(형질 도입되지 않음)
(공여자1)
공여자1
대조군
(형질 도입되지 않음)
(공여자1)
공여자2
시간 [일]

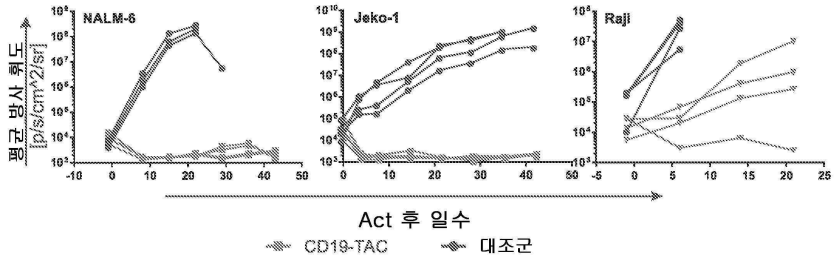
도면19



19a 19b 19c

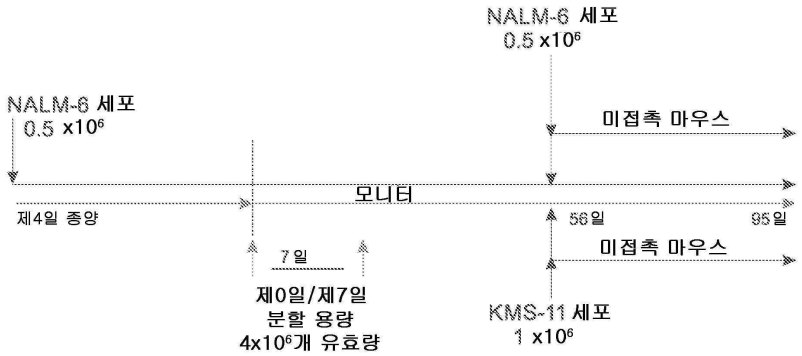


19d

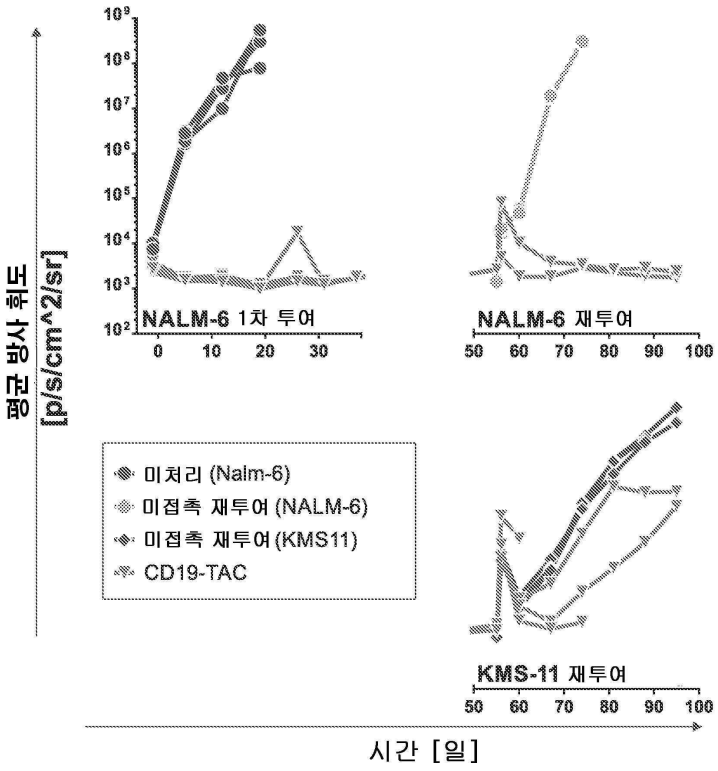


19e 19f 19g

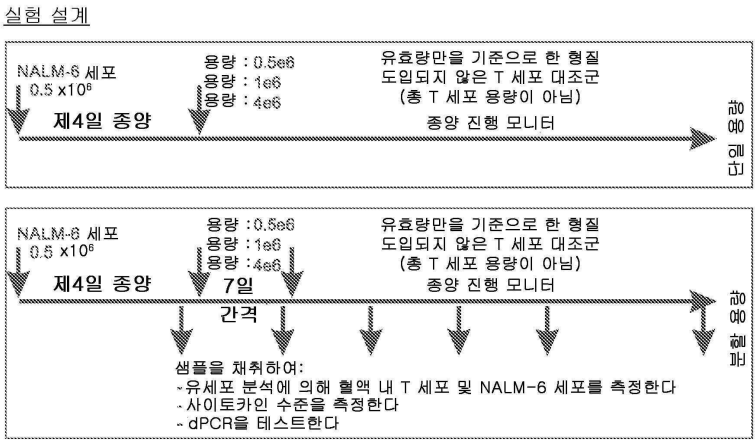
도면20a



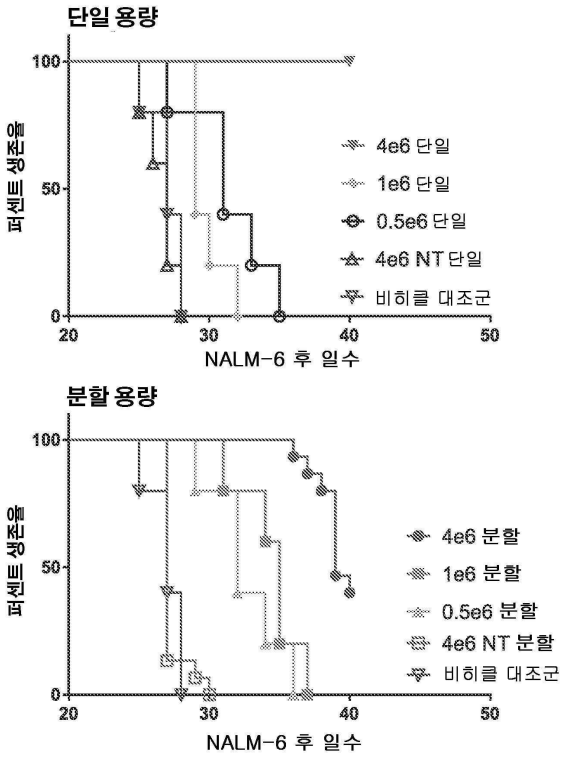
도면20b


평균 방사 휘도 [p/s/cm^2/sr]
NALM-6 1차 투여
NALM-6 재투여
KMS-11 재투여
미처리 (Nalm-6)
미접촉 재투여 (NALM-6)
미접촉 재투여 (KMS11)
CD19-TAC
시간 [일]

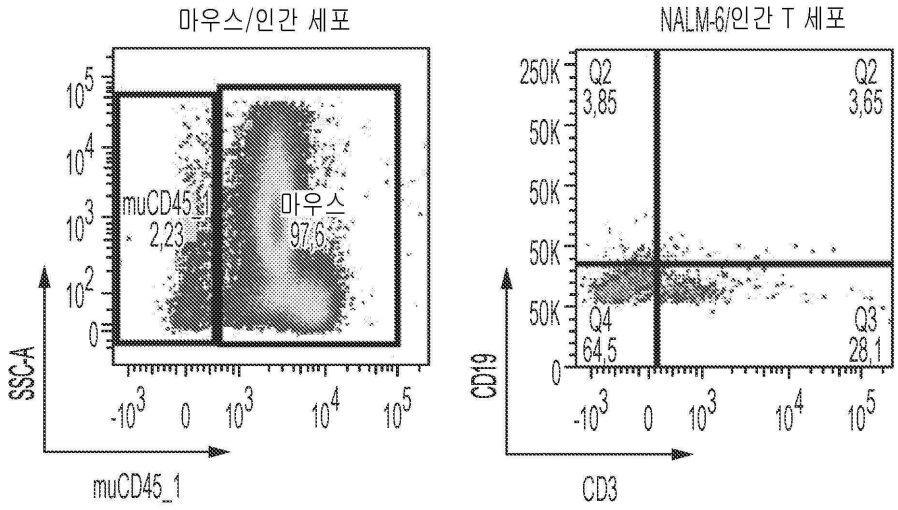
도면21a


실험 설계
NALM-6 세포
0.5 x10^6
제4일 종양
용량 : 0.5e6
용량 : 1e6
용량 : 4e6
유효량만을 기준으로 한 형질
도입되지 않은 T 세포 대조군
(총 T 세포 용량이 아님)
종양 진행 모니터
단일 용량
NALM-6 세포
0.5 x10^6
제4일 종양
용량 : 0.5e6
용량 : 1e6
용량 : 4e6
7일
간격
유효량만을 기준으로 한 형질
도입되지 않은 T 세포 대조군
(총 T 세포 용량이 아님)
종양 진행 모니터
다중 용량
샘플을 채취하여:
- 유세포 분석에 의해 혈액 내 T 세포 및 NALM-6 세포를 측정한다
- 사이토카인 수준을 측정한다
- dPCR을 테스트한다

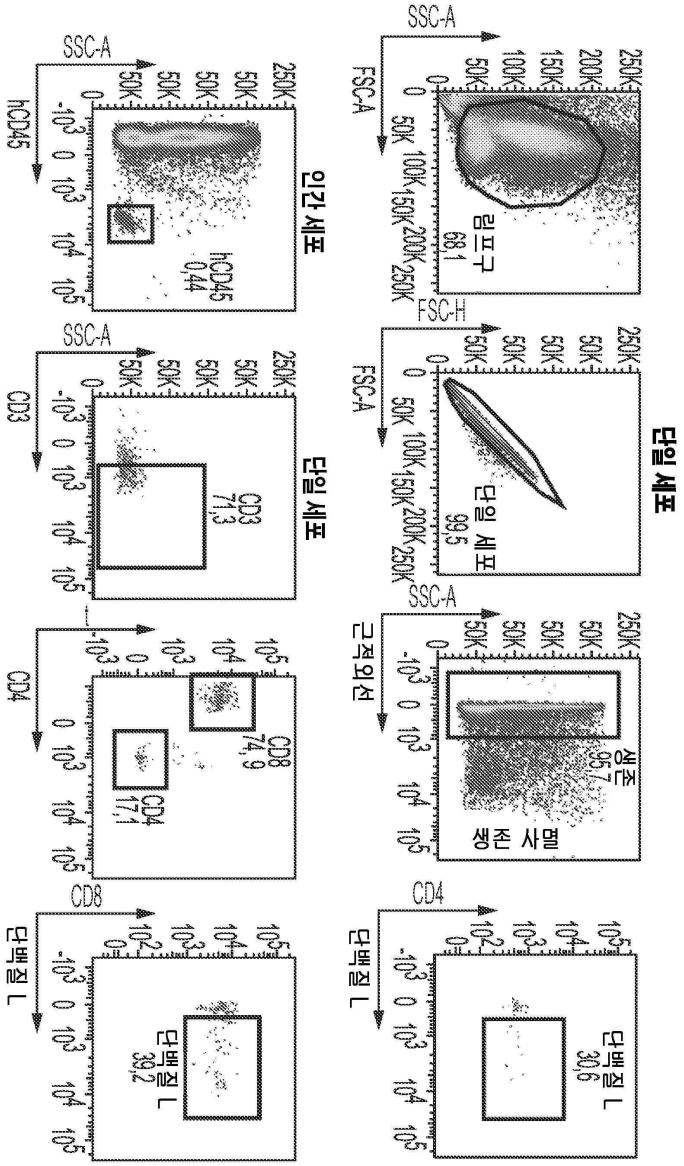
도면21b


단일 용량
퍼센트 생존율
100
50
0
20
30
40
50
NALM-6 후 일수
4e6 단일
1e6 단일
0.5e6 단일
4e6 NT 단일
비히클 대조군
분할 용량
퍼센트 생존율
100
50
0
20
30
40
50
NALM-6 후 일수
4e6 분할
1e6 분할
0.5e6 분할
4e6 NT 분할
비히클 대조군

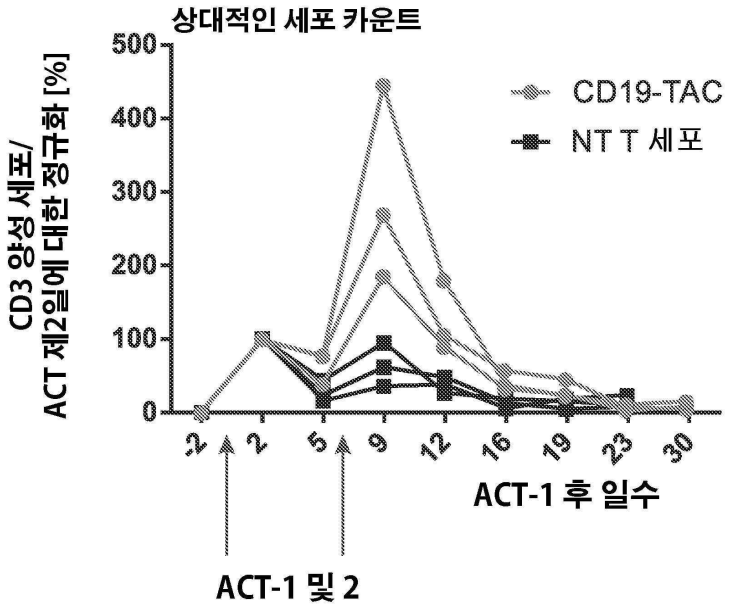
도면22a


마우스/인간 세포
SSC-A
muCD45_1
muCD45_1
2,23
마우스
97,6
NALM-6/인간 T 세포
CD19
CD3
Q2
3,85
Q2
3,65
Q4
64,5
Q3
28,1
250K
50K
50K
50K
50K
0

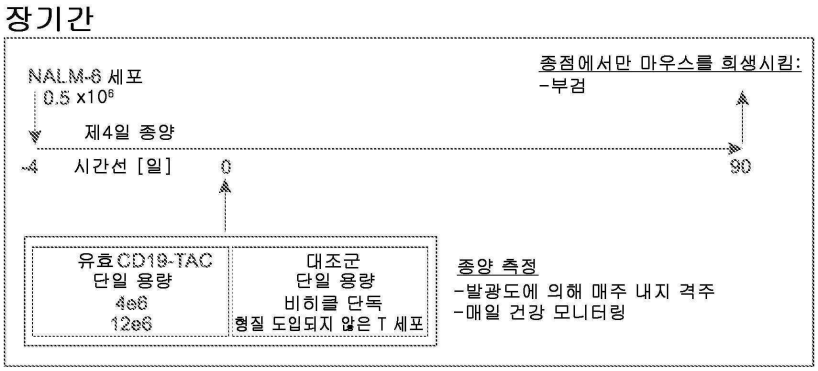
도면22aa


SSC-A
FSC-A
림프구
68.1
FSC-H
FSC-A
단일 세포
99.5
단일 세포
SSC-A
근적외선
생존
95.7
생존 사멸
SSC-A
hCD45
인간 세포
hCD45
0.44
SSC-A
CD3
단일 세포
CD3
71.3
CD4
CD8
CD8
74.9
CD4
17.1
CD8
단백질 L
단백질 L
39.2
CD4
단백질 L
단백질 L
30.6

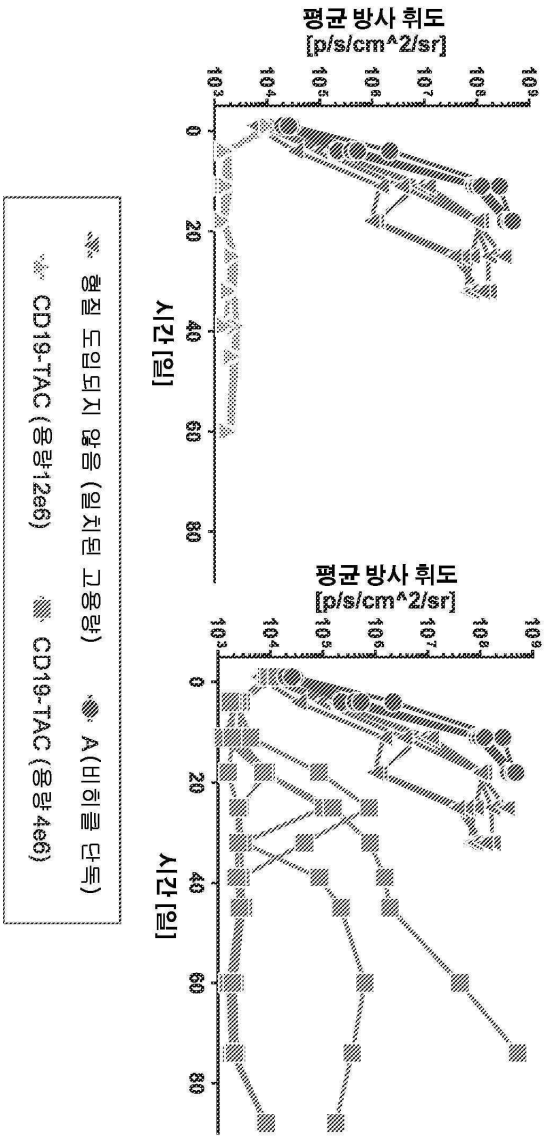
도면22b


상대적인 세포 카운트
CD3 양성 세포/
ACT 제2일에 대한 정규화 [%]
500
400
300
200
100
0
CD19-TAC
NT T 세포
-2
2
5
9
12
16
19
23
30
ACT-1 후 일수
ACT-1 및 2

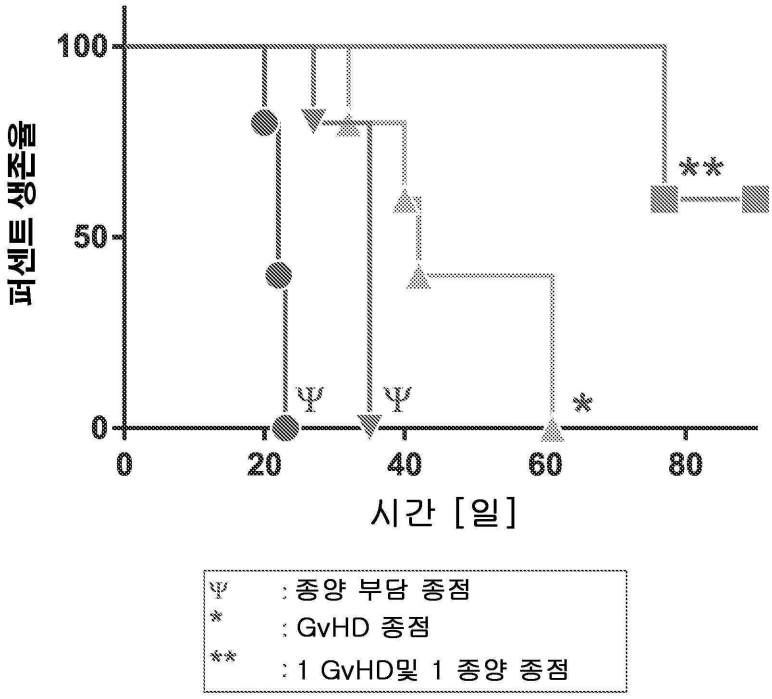
도면23a


장기간
NALM-6 세포
0.5 x10⁶
제4일 종양
-4
시간선 [일]
0
종점에서만 마우스를 희생시킴:
-부검
90
유효 CD19-TAC
단일 용량
4e6
12e6
대조군
단일 용량
비히클 단독
형질 도입되지 않은 T 세포
종양 측정
-발광도에 의해 매주 내지 격주
-매일 건강 모니터링

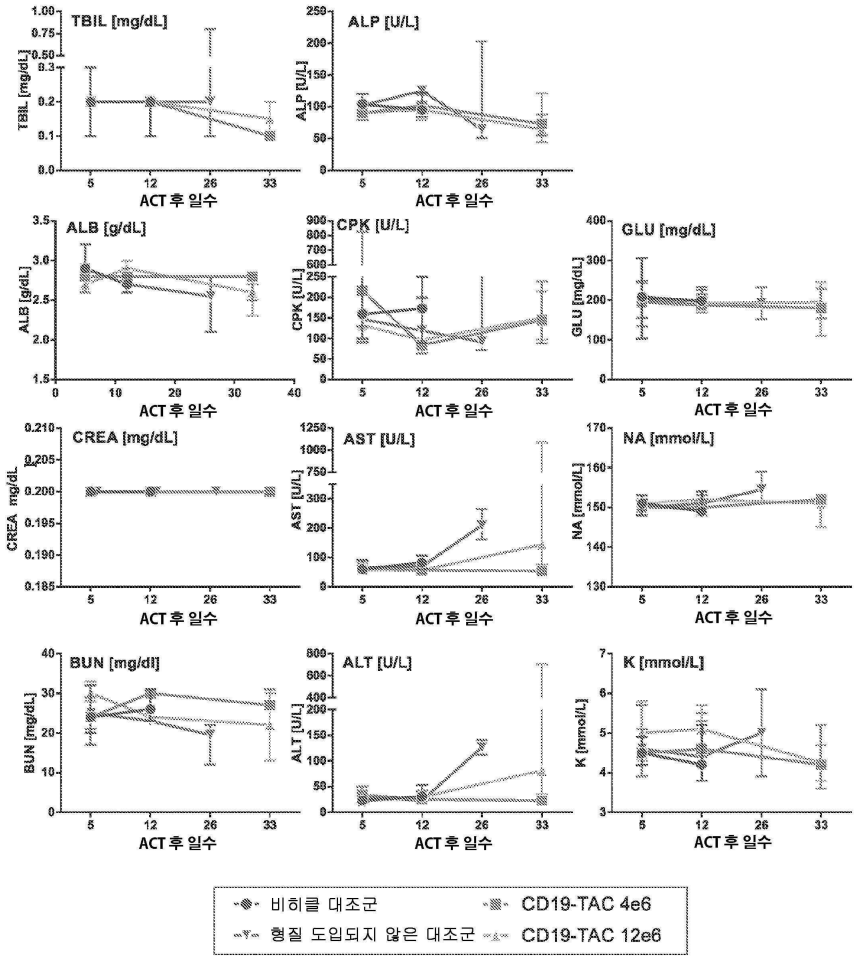
도면23b


평균 방사 휘도
[p/s/cm^2/sr]
시간 [일]
평균 방사 휘도
[p/s/cm^2/sr]
시간 [일]
형질 도입되지 않음 (일치된 고용량)
A (비히클 단독)
CD19-TAC (용량12e6)
CD19-TAC (용량4e6)

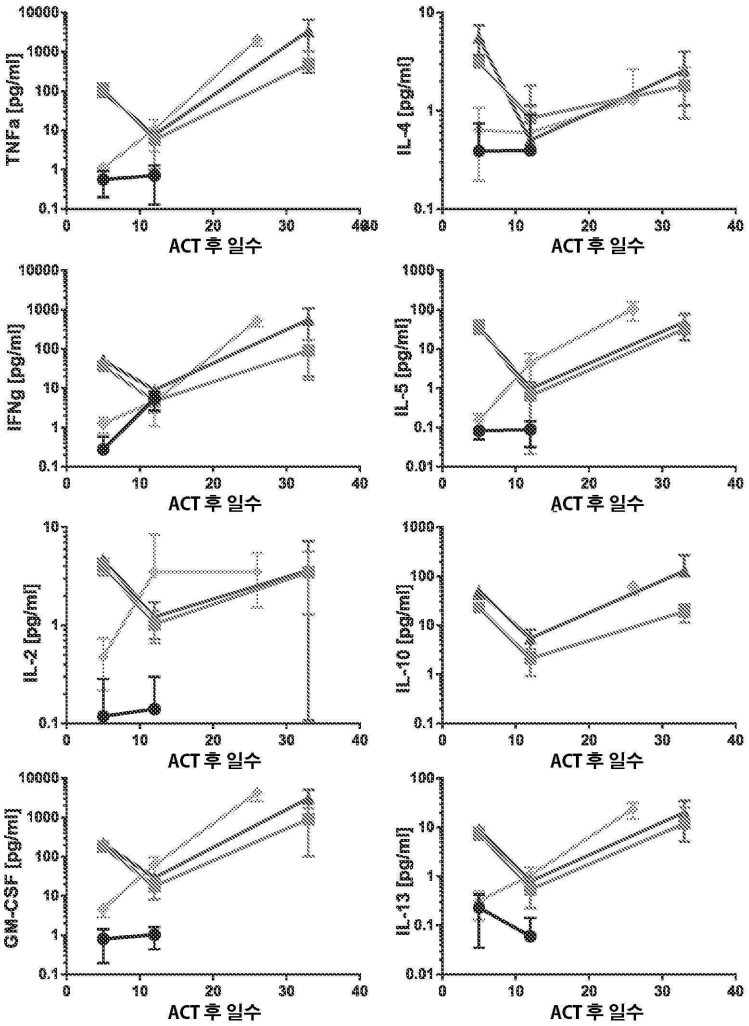
도면23c


퍼센트 생존율
100
50
0
0
20
40
60
80
시간 [일]
Ψ : 종양 부담 종점
* : GvHD 종점
** : 1 GvHD및 1 종양 종점

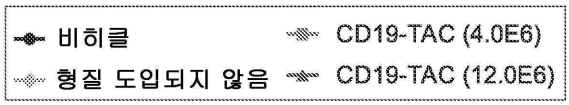
도면24


TBIL [mg/dL]
ALP [U/L]
ALB [g/dL]
CPK [U/L]
GLU [mg/dL]
CREA [mg/dL]
AST [U/L]
NA [mmol/L]
BUN [mg/dl]
ALT [U/L]
K [mmol/L]
ACT 후 일수
비히클 대조군
CD19-TAC 4e6
형질 도입되지 않은 대조군
CD19-TAC 12e6

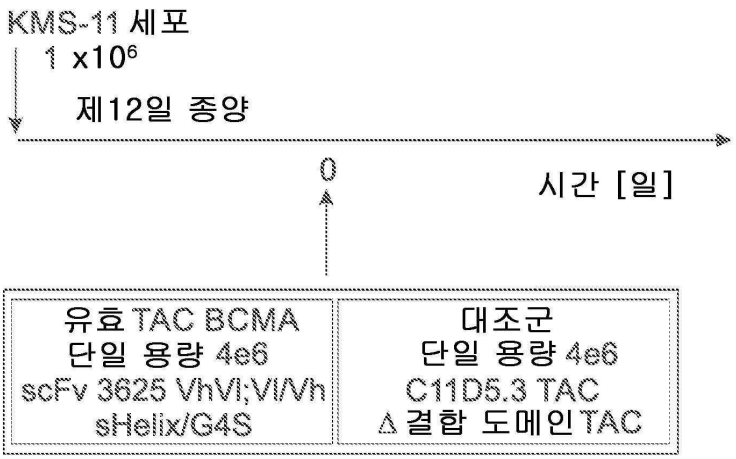
도면25



IL-6는 모든 시점에서 검출 수준 미만이었다



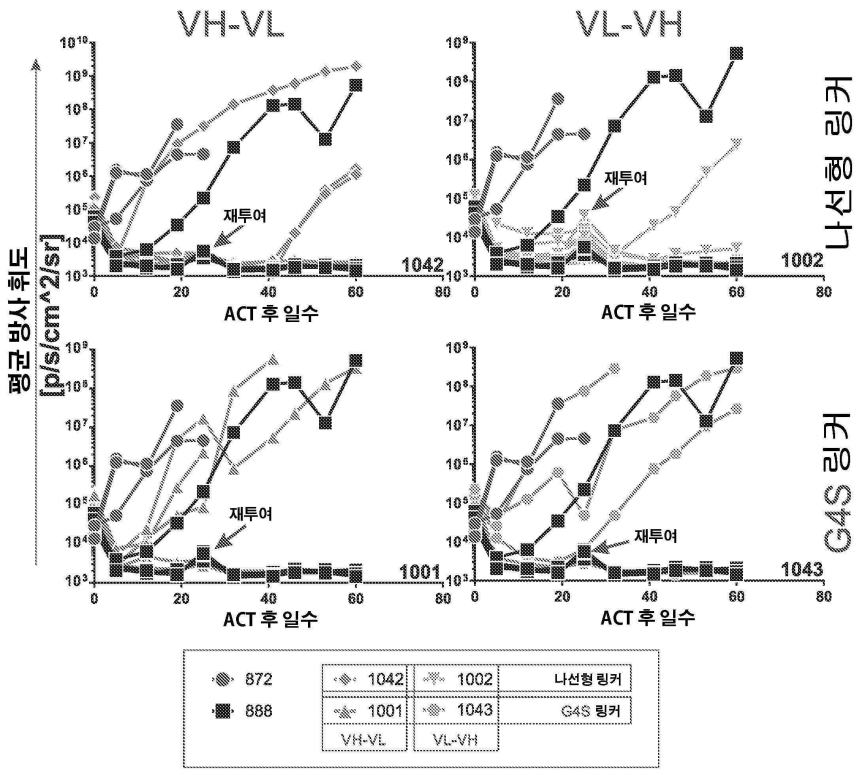
도면26a



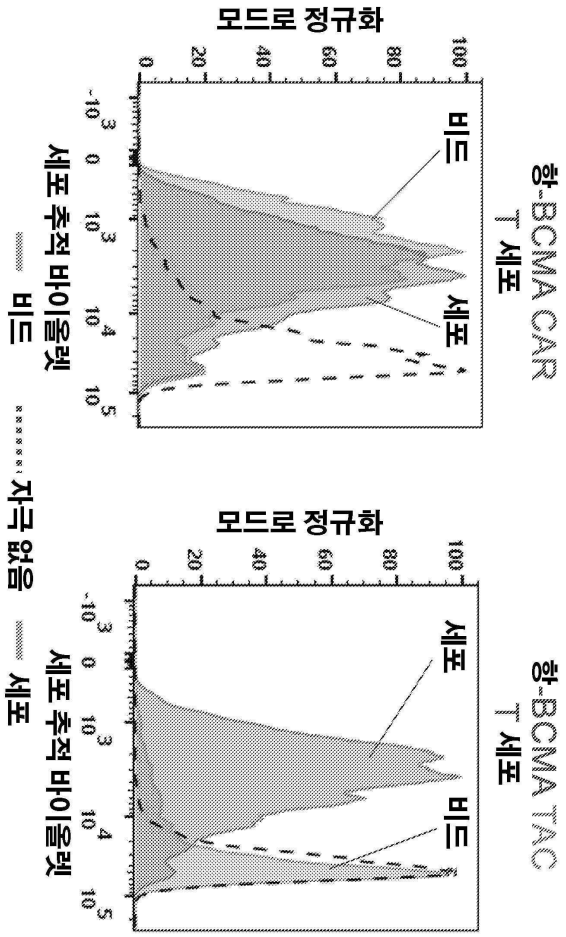
도면26b

ID	링커	단쇄
872	G4S	----------
888	G4S	C11D5.3
1001	G4S	3625 H-L
1002	짧은 나선	3625 L-H
1042	짧은 나선	3625 H-L
1043	G4S	3625 L-H

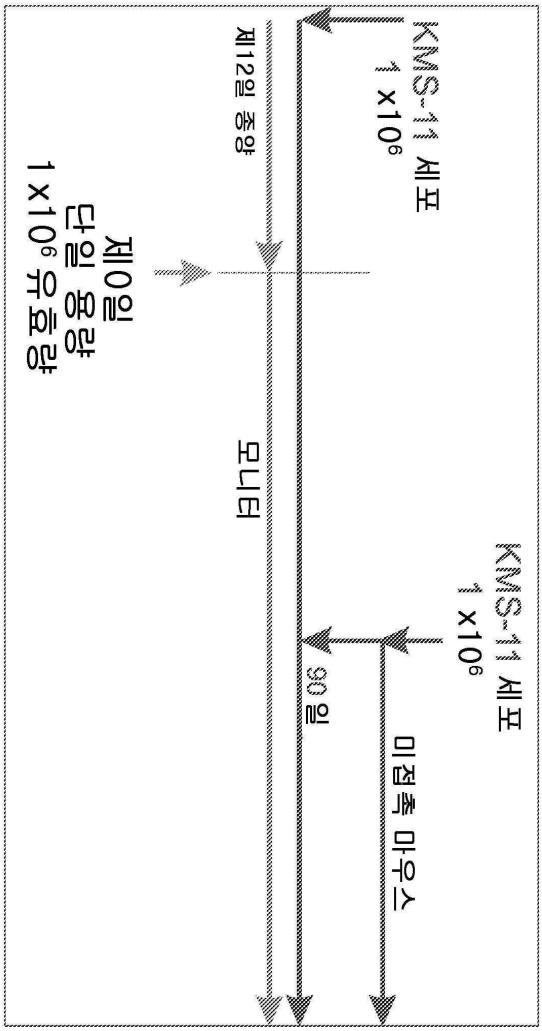
도면26c



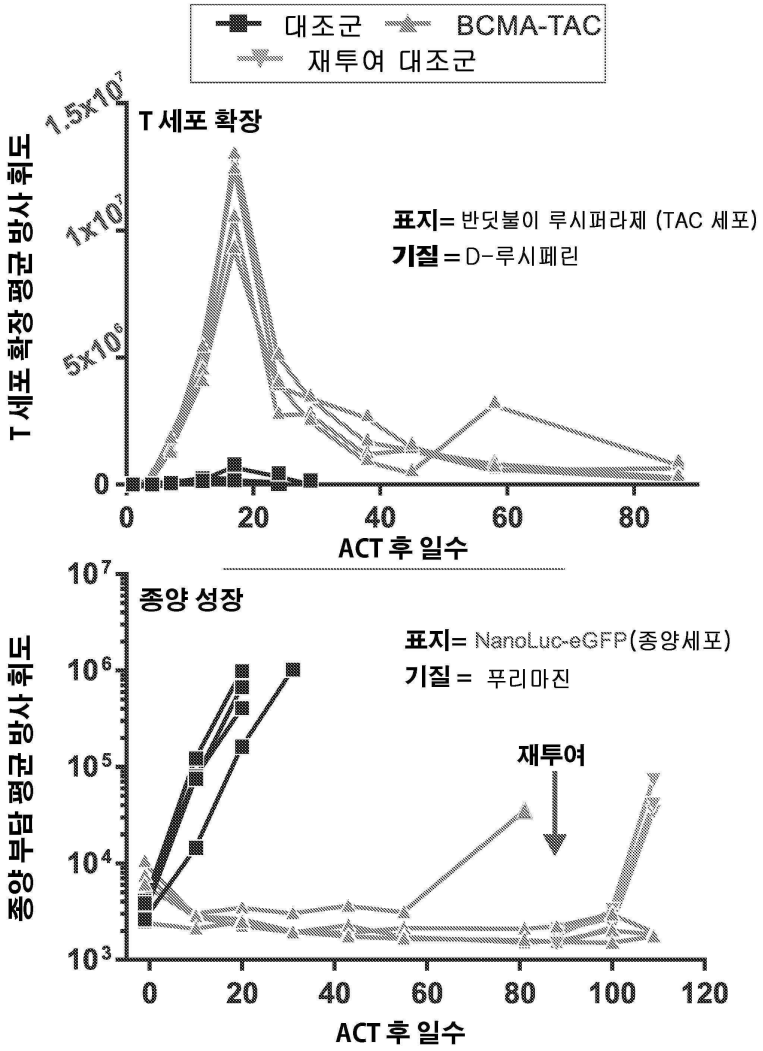
도면27


항-BCMA CAR T 세포
모드로 정규화
비드
세포
세포 추적 바이올렛
비드
항-BCMA TAC T 세포
모드로 정규화
세포
비드
세포 추적 바이올렛
자극 없음
세포

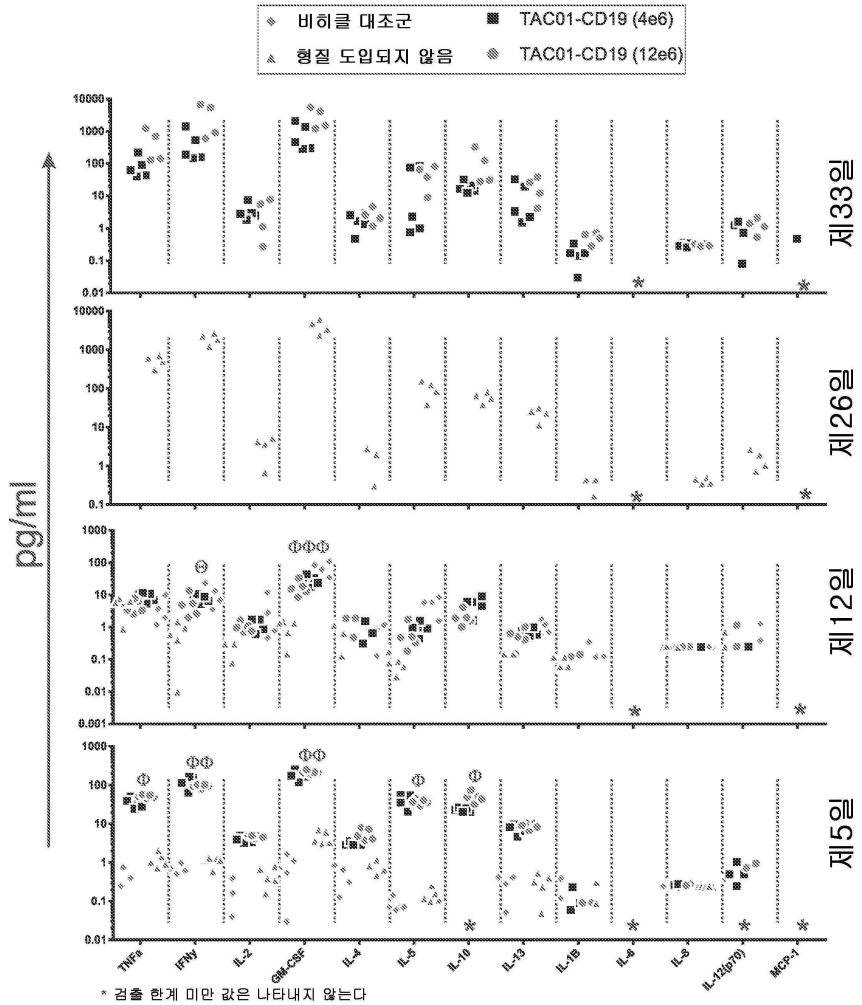
도면28a


KMS-11 세포
1 x10^6
제12일 종양
제0일
단일 용량
1 x10^6 유효량
모니터
KMS-11 세포
1 x10^6
90 일
미접촉 마우스

도면28b


대조군
BCMA-TAC
재투여 대조군
T 세포 확장
T 세포 확장 평균 방사 휘도
1.5x10^7
1x10^7
5x10^6
0
0
20
40
60
80
ACT 후 일수
표지= 반딧불이 루시퍼라제 (TAC 세포)
기질 = D-루시페린
종양 성장
종양 부담 평균 방사 휘도
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
0
20
40
60
80
100
120
ACT 후 일수
표지= NanoLuc-eGFP(종양세포)
기질 = 푸리마진
재투여

도면29



* 검출 한계 미만 값은 나타내지 않는다

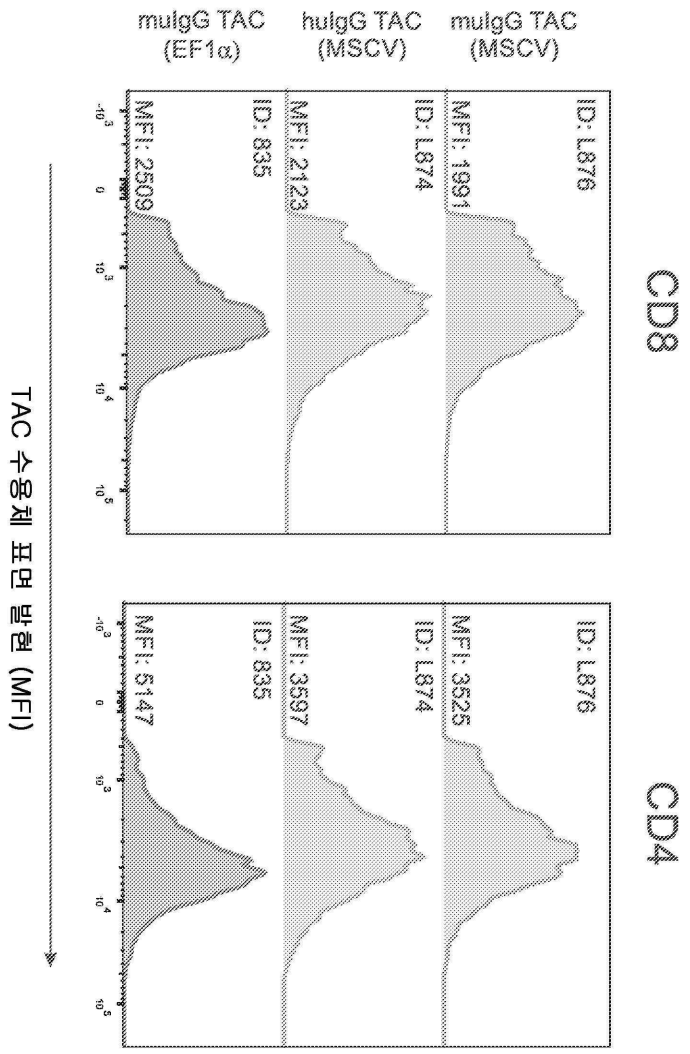
Φ 처리된 마우스는 대조군과 상당히 상이함

ΦΦ 처리된 마우스는 대조군과 그리고 서로 간에 상당히 상이함

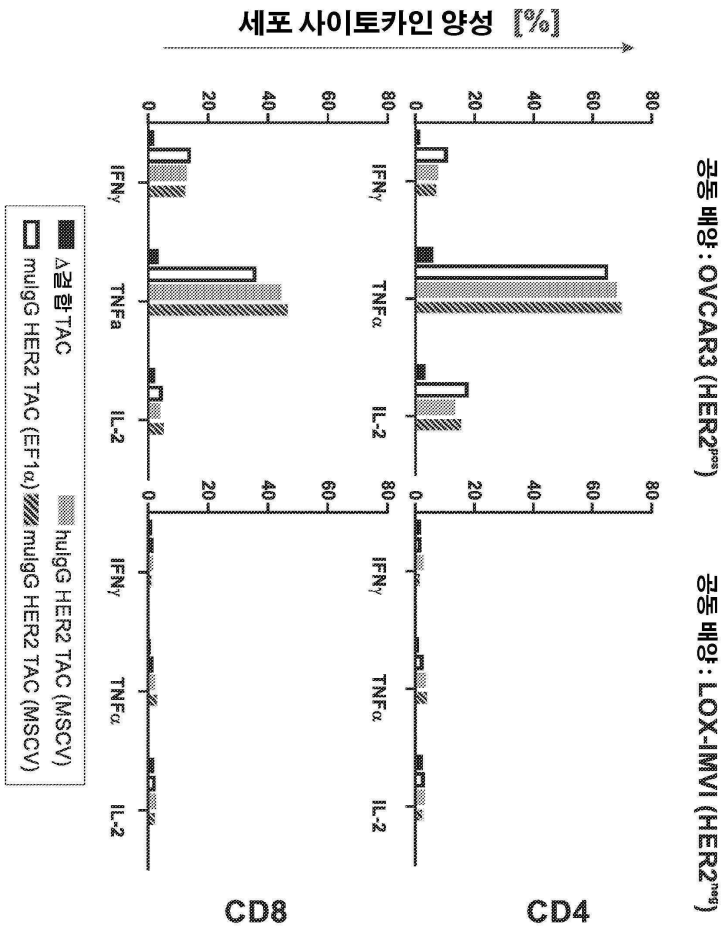
ΦΦΦ 모든 그룹이 서로 상당히 상이함

Θ 비히클만이 형질 도입되지 않은 마우스와 상당히 상이함

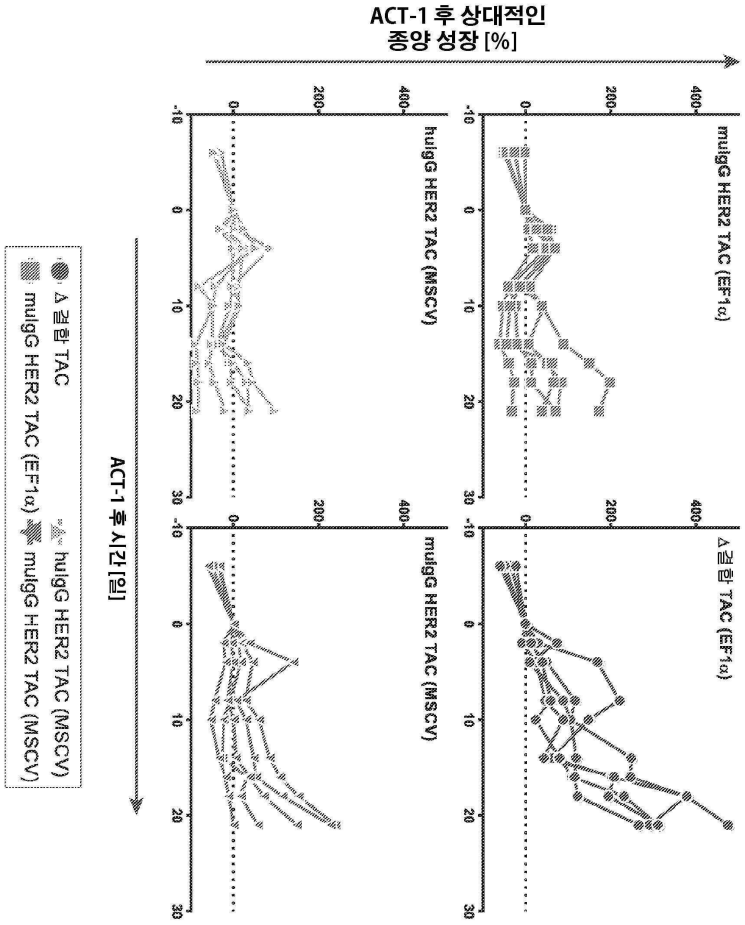
도면30


muIgG TAC (EF1α)
huIgG TAC (MSCV)
muIgG TAC (MSCV)
ID: L876
MFI: 1991
ID: L874
MFI: 2123
ID: 835
MFI: 2509
CD8
ID: L876
MFI: 3525
ID: L874
MFI: 3597
ID: 835
MFI: 5147
CD4
TAC 수용체 표면 발현 (MFI)

도면31


세포 사이토카인 양성 [%]
공동 배양 : OVCAR3 (HER2^pos)
공동 배양 : LOX-IMVI (HER2^neg)
CD8
CD4
IFNγ
TNFα
IL-2
0
20
40
60
80
Δ결합 TAC
hulgG HER2 TAC (MSCV)
mulgG HER2 TAC (EF1α)
mulgG HER2 TAC (MSCV)

도면32



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> MCMASTER UNIVERSITY

TRIUMVIRA IMMUNOLOGICS USA, INC.

<120> T CELL-ANTIGEN COUPLER WITH VARIOUS CONSTRUCT OPTIMIZATIONS

<130> 55247-704.601

<140><141><150> 62/839,235

<151> 2019-04-26

<150> 62/828,879

<151> 2019-04-03

<150> 62/826,853

<151> 2019-03-29

<150> 62/773,120

<151> 2018-11-29

<150> 62/703,037

<151> 2018-07-25

<150> 62/699,173

<151> 2018-07-17

<160> 77

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1521

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 1

atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 60

gatgaagtga gaatcctgat ggccaacggg gctgacgtga atgctaagga tgagtacggc 120

ctgacccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtcctgctg 180

aaaaacggag ccgacgtgaa tgcagtcgat gccattgggt tcactcctct gcacctggca 240

gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacgtgaac 300

gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aaatgaagac 360

ctggctgaaa tcctgcagaa actgaatgaa cagaaactga ttagcgaaga agacctgaac 420

cccgggggag gaggagggag cgggggagga ggcagcggcg ggggaggctc tggaggagga 480

gggagcggat ccatggacat ccagatgact cagaccacaa gctccctgtc tgcaagtctg 540

ggcgaccggg tgacaatctc ctgcagagcc tctcaggata ttaggaacta cctgaattgg 600

tatcagcaga aacctgatgg cacagtcaag ctgctgatct actataccag ccggctgcac 660

tcaggcgtgc caagcaaatt ctcaggaagc ggctccggga ctgactactc cctgaccatc 720

tctaacctgg agcaggaaga tattgctacc tatttctgcc agcagggcaa tacactgccc 780

tggacttttg ccggaggcac caaactggag atcaaggggg gaggcgggag tggaggcggg 840

ggatcaggag gaggaggcag cggaggagga gggtccgagg tccagctgca gcagagcgga 900

ccagaactgg tgaagcccgg agcaagtatg aaaatctcct gtaaggcctc aggatacagc 960

ttcaccggct atacaatgaa ctgggtgaaa cagtcccatg gcaagaacct ggaatggatg 1020

gggctgatta atccttacaa aggcgtcagc acctataatc agaagtttaa agacaaggcc 1080

acactgactg tggataagtc tagttcaacc gcttacatgg agctgctgtc cctgacatct 1140

gaagacagtg ccgtgtacta ttgtgctcgg tctggctact atggggacag tgattggtac 1200

ttcgatgtct ggggacaggg cactaccctg accgtgtttt ctactagtgg cggaggagga 1260
tcactcgaga gcggacaggt gctgctggaa tccaatatca aagtcctgcc cacttggtct 1320
acccccgtgc agcctatggc tctgattgtg ctgggaggag tcgcaggact gctgctgttt 1380
atcgggctgg gaattttctt ttgcgtgcgc tgccggcacc ggagaaggca ggccgagcgc 1440
atgagccaga tcaagcgact gctgagcgag aagaaaacct gtcagtgtcc ccatagattc 1500
cagaagacct gttcacccat t 1521

<210> 2
<211> 525
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

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

<400> 2

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

130 135 140

Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Pro Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser

180 185 190

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

195 200 205

Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp

210 215 220

Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln

260 265 270

Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Ala Gly Gly Thr Lys Leu Glu

275 280 285

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

290 295 300

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu

305 310 315 320

Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly

325 330 335

Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly

340 345 350

Lys Asn Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser

355 360 365

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

370 375 380

Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp
385 390 395 400
Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp
405 410 415
Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Phe Ser
420 425 430
Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu

435 440 445
Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met
450 455 460
Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly
465 470 475 480
Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala
485 490 495
Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys

500 505 510
Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
515 520 525

<210> 3

<211> 1647

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 3

atggactttc aggtgcagat tttctctttt ctgctgattt ccgcaagcgt catcgagctc 60

gggggggggg ggtcaggatc catggacatc cagatgactc agaccacaag ctccctgagc 120

gcatccctgg gcgaccgagt gacaatctca tgcagagcca gccaggatat taggaactac 180

ctgaattggt atcagcagaa acctgacggc acagtcaagc tgctgatcta ctatacttcc 240

cggctgcact ctggcgtgcc aagtaaattc tctgggagtg gatcaggcac tgactactca 300

ctgaccatca gcaacctgga gcaggaagat attgctacct atttctgcca gcagggcaat 360

acactgccct ggacttttgc aggcgggacc aaactggaga tcaagggcgg cggcggaagt 420

ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc ggcggaggag gcagcgaggt ccagctgcag 480

cagagcggac cagaactggt gaagcctggc gcatccatga aaatctcttg taaggcctct 540

gggtacagtt tcaccggata tacaatgaac tgggtgaaac agtctcatgg caagaacctg 600

gaatggatgg gcctgattaa tccttacaaa ggcgtcagca cctataatca gaagtttaaa 660

gacaaggcca cactgactgt ggataagtct agttcaaccg cttacatgga gctgctgtca 720

ctgacaagcg aagactccgc cgtgtactat tgcgctagga gcggatacta tggcgactcc 780

gattggtact tcgatgtctg ggggcaggga actaccctga ccgtgtttag cactagtgga 840

ggaggaggct ctggaggagg agggagtgga ggcgggggat caggaggagg aggcagcgat 900

atcatgtcac ggggctccga cctgggcaaa aagctgctgg aggccgctag ggccgggcag 960

gacgatgaag tgagaatcct gatggccaac ggggctgacg tgaatgctaa ggatgagtac 1020

ggcctgaccc ccctgtatct ggctacagca cacggccatc tggagatcgt ggaagtcctg 1080

ctgaaaaacg gagccgacgt gaatgcagtc gatgccattg ggttcactcc tctgcacctg 1140

gcagccttta tcggacatct ggagattgca gaagtgctgc tgaagcacgg cgctgacgtg 1200

aacgcacagg ataagttcgg aaaaaccgct tttgacatca gcattggcaa cggaaatgaa 1260

gacctggctg aaatcctgca gaaactgaat gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 1320

aacgtcgacg gaggaggagg gtctggagga gggggaagtg gcgggggagg cagcgggggа 1380

ggcgggtctc tcgagagtgg ccaggtgctg ctggaaagca atatcaaggt cctgccaact 1440

tggtccaccc cagtgcagcc tatggctctg attgtgctgg gaggagtcgc aggactgctg 1500

ctgtttatcg gcctggggat tttcttttgc gtgcgctgcc ggcaccggag aaggcaggct 1560

gagcgcatgt ctcagattaa gcgactgctg agcgagaaga agacctgtca gtgcccccat 1620

agattccaga aaacctgttc acccatt 1647

<210> 4

<211> 547

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 4

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Ile Glu Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln Met

20 25 30

Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr

35 40 45

Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr

50 55 60

Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser

65 70 75 80

Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly

85 90 95

Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln Glu Asp Ile Ala

100 105 110

Thr Tyr Phe Cys Gln Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Ala Gly Gly Thr

115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser

145 150 155 160

Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Met Lys Ile Ser Cys Lys

165 170 175

Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln

180 185 190

Ser His Gly Lys Asn Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly

245 250 255

Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr

260 265 270

Val Phe Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

275 280 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Met Ser Arg Gly Ser

290 295 300

Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp

305 310 315 320

Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp

325 330 335

Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu Ala Thr Ala His Gly His Leu

340 345 350

Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val

355 360 365

Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His Leu Ala Ala Phe Ile Gly His

370 375 380

Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys His Gly Ala Asp Val Asn Ala

385 390 395 400

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

405 410 415

Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu Asn Glu Gln Lys Leu

420 425 430

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

435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser

450 455 460

Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser

465 470 475 480

Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly

485 490 495

Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg

500 505 510

His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu

515 520 525

Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys

530 535 540

Ser Pro Ile

545

<210> 5

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 5

atggatttcc aggtccagat tttctccttc ctgctgattt ccgcaagcgt catt 54

<210> 6

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 6

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Ile

<210> 7

<211> 387

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 7

atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 60

gatgaagtga gaatcctgat ggccaacggg gctgacgtga atgctaagga tgagtacggc 120

ctgacccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtcctgctg 180

aaaaacggag ccgacgtgaa tgcagtcgat gccattgggt tcactcctct gcacctggca 240

gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacgtgaac 300

gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aaatgaagac 360

ctggctgaaa tcctgcagaa actgaat 387

<210> 8

<211> 129

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 8

Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala Ala Arg
1 5 10 15

Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly Ala Asp
20 25 30

Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu Ala Thr
35 40 45

Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala
50 55 60

Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His Leu Ala
65 70 75 80

Ala Phe Ile Gly His Leu Glu Ile Ala Glu Val Leu Leu Lys His Gly
85 90 95

Ala Asp Val Asn Ala Gln Asp Lys Phe Gly Lys Thr Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Ser Ile Gly Asn Gly Asn Glu Asp Leu Ala Glu Ile Leu Gln Lys Leu
115 120 125

Asn

<210> 9

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 9

gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 30

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 10

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1 5 10

<210> 11

<211> 75

<212> DNA

<213
> Artificial Sequence

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

<400> 11

aaccccgggg gaggaggagg gagcgggggga ggaggcagcg gcgggggagg ctctggagga 60

ggagggagcg gatcc 75

<210> 12

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 12

Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser

20 25

<210> 13

<211> 750

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 13

atggacatcc agatgactca gaccacaagc tccctgtctg caagtctggg cgaccgggtg 60

acaatctcct gcagagcctc tcaggatatt aggaactacc tgaattggta tcagcagaaa 120

cctgatggca cagtcaagct gctgatctac tataccagcc ggctgcactc aggcgtgcca 180

agcaaattct caggaagcgg ctccgggact gactactccc tgaccatctc taacctggag 240

caggaagata ttgctaccta tttctgccag cagggcaata cactgccctg gacttttgcc 300

ggaggcacca aactggagat caaggggggga ggcgggagtg gaggcggggg atcaggagga 360

ggaggcagcg gaggaggagg gtccgaggtc cagctgcagc agagcggacc agaactggtg 420

aagcccggag caagtatgaa aatctcctgt aaggcctcag gatacagctt caccggctat 480

acaatgaact gggtgaaaca gtcccatggc aagaacctgg aatggatggg gctgattaat 540

ccttacaaag gcgtcagcac ctataatcag aagtttaaag acaaggccac actgactgtg 600

gataagtcta gttcaaccgc ttacatggag ctgctgtccc tgacatctga agacagtgcc 660

gtgtactatt gtgctcggtc tggctactat ggggacagtg attggtactt cgatgtctgg 720

ggacagggca ctaccctgac cgtgttttct 750

<210> 14

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 14

Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu

1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn

20 25 30

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

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Phe Ser
245 250

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 15

actagtggcg gaggaggatc actcgag 27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 16

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu
1 5

<210> 17

<211> 252

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 17

agcggacagg tgctgctgga atccaatatc aaagtcctgc ccacttggtc tacccccgtg 60

cagcctatgg ctctgattgt gctgggagga gtcgcaggac tgctgctgtt tatcgggctg 120

ggaattttct tttgcgtgcg ctgccggcac cggagaaggc aggccgagcg catgagccag 180

atcaagcgac tgctgagcga gaagaaaacc tgtcagtgtc cccatagatt ccagaagacc 240

tgttcaccca tt 252

<210> 18

<211> 84

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 18

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

Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala
20 25 30

Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys
35 40 45

Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu
50 55 60

Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr
65 70 75 80

Cys Ser Pro Ile

<210> 19

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 19

agcggacagg tgctgctgga atccaatatc aaagtcctgc ccacttggtc tacccccgtg 60

cagcct 66

<210> 20

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 20

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

Ser Thr Pro Val Gln Pro

20

<210> 21

<211> 769

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 21

atggccgaca tcgtgctgac acagagcccc gccatcatgt ctgccagccc tggcgagaaa 60

gtgaccatga cctgtagcgc cagcagcagc gtgtcctaca tgaactggta tcagcagaag 120

tccggcacca gccccaagcg gtggatctac gacacaagca agctggcctc tggcgtgccc 180

gcccacttta gaggctctgg cagcggcaca agctacagcc tgaccatcag cggcatggaa 240

gccgaggatg ccgccaccta ctactgccag cagtggtcca gcaacccctt cacctttggc 300

tccggcacaa agctggaaat caaccgggcc gacaccgccc ctacaggcgg cggaggatct 360

ggcggaggcg gatctggggg cggaggaagt ggggggggag gatctatggc tcaggtgcag 420

ctgcagcagt ctggcgccga actggctaga cctggcgcct ccgtgaagat gagctgcaag 480

gccagcggct acaccttcac ccggtacacc atgcactggg tcaagcagag gcctggacag 540

ggcctggaat ggatcggcta catcaacccc agccggggct acaccaacta caaccagaag 600

ttcaaggaca aggccaccct gaccaccgac aagagcagca gcaccgccta catgcagctg 660

tcctccctga ccagcgagga cagcgccgtg tactactgcg cccggtacta cgacgaccac 720

tactccctgg actactgggg ccagggcacc acactgaccg tgtctagta 769

<210> 22

<211> 256

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 22

Met Ala Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser

1 5 10 15

Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser

20 25 30

Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp

35 40 45

Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala His Phe Arg

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Gly Met Glu

65 70 75 80

Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro

85 90 95

Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Asn Arg Ala Asp Thr

100 105 110

Ala Pro Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ala Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser

130 135 140

Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys

145 150 155 160

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln

165 170 175

Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg

180 185 190

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

195 200 205

Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr

210 215 220

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His

225 230 235 240

Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser

245 250 255

<210> 23

<211> 747

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 23

cagaccgtgg tgacccagga gcccagcctg accgtgagcc ccggcggcac cgtgaccctg 60

acctgcggca gcagcaccgg cgccgtgacc agcggctact accccaactg ggtgcagcag 120

aagcccggcc aggcccccag gggcctgatc ggcggcacca agttcctggc ccccggcacc 180

cccgccaggt tcagcggcag cctgctgggc ggcaaggccg ccctgaccct gagcggcgtg 240

cagcccgagg acgaggccga gtactactgc gccctgtggt acagcaacag gtgggtgttc 300

ggcggcggca ccaagctgac cgtgctgggc ggcggcggca gcggcggcgg cggcagcggc 360

ggcggcggca gcgaggtgca gctgctggag agcggcggcg gcctggtgca gcccggcggc 420

agcctgaagc tgagctgcgc cgccagcggc ttcaccttca acatctacgc catgaactgg 480

gtgaggcagg cccccggcaa gggcctggag tgggtggcca ggatcaggag caagtacaac 540

aactacgcca cctactacgc cgacagcgtg aagagcaggt tcaccatcag cagggacgac 600

agcaagaaca ccgcctacct gcagatgaac aacctgaaga ccgaggacac cgccgtgtac 660

tactgcgtga ggcacggcaa cttcggcaac agctacgtga gcttcttcgc ctactggggc 720

cagggcaccc tggtgaccgt gagcagc 747

<210> 24

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 24

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125
Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Ile Tyr Ala Met Asn Trp
145 150 155 160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
165 170 175
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Ser
180 185 190
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 25
<211> 720
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide
<400> 25

gacatccagc tgacccagag ccccgccatc atgagcgcca gccccggcga gaaggtgacc 60

atgacctgca gggccagcag cagcgtgagc tacatgaact ggtaccagca gaagagcggc 120
accagcccca agaggtggat ctacgacacc agcaaggtgg ccagcggcgt gccctacagg 180
ttcagcggca gcggcagcgg caccagctac agcctgacca tcagcagcat ggaggccgag 240
gacgccgcca cctactactg ccagcagtgg agcagcaacc ccctgacctt cggcgccggc 300
accaagctgg agctgaaggg cggcggcggc agcggcggcg gcggcagcgg cggcggcggc 360
agcgacatca agctgcagca gagcggcgcc gagctggcca ggcccggcgc cagcgtgaag 420
atgagctgca agaccagcgg ctacaccttc accaggtaca ccatgcactg ggtgaagcag 480

aggcccggcc agggcctgga gtggatcggc tacatcaacc ccagcagggg ctacaccaac 540
tacaaccaga agttcaagga caaggccacc ctgaccaccg acaagagcag cagcaccgcc 600
tacatgcagc tgagcagcct gaccagcgag gacagcgccg tgtactactg cgccaggtac 660
tacgacgacc actactgcct ggactactgg ggccagggca ccaccctgac cgtgagcagc 720

<210> 26

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 26

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met

20 25 30

Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr

85 90 95

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

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

195 200 205
Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His
210 215 220
Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

<210> 27

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 27

gccgaagcag cagcaaagga ggccgcagcg aaggaagcag ctgcgaaggc c 51

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 28

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 29

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 29

gccgaggcag ctgcaaagga agctgcggcg aaggaggccg cagcgaaaga agcagcggca 60

aaagaagcag ccgccaaagc c 81

<210> 30

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 30

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys

1 5 10 15

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

20 25

<210> 31

<211> 576

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 31

atcgtagtgt tggcatttca aaaagcgtct agcatcgtct ataagaagga aggtgaacaa 60

gtcgagtttt ctttcccct tgcatttacg gtggaaaagc ttacgggtag cggcgagctg 120

tggtggcaag ctgaacgggc ttcaagctca aaatcttgga ttacttttga cttgaagaac 180

aaagaggtga gtgtcaaaag agttactcag gacccaaagc ttcaaatggg gaagaaactt 240

ccgctgcacc tgacgttgcc tcaggccctg cctcaatatg ccggctcagg caatctgacc 300

ctcgcgctgg aagctaagac cggaaaattg caccaggaag tcaatttggt tgtgatgcgc 360

gccactcagc tccaaaaaaa tctcacttgc gaggtatggg ggcctacgag cccaaaactt 420

atgctgtctt tgaagcttga aaacaaggaa gcgaaagttt ctaagcgcga gaaagcggta 480

tgggttttga atcctgaggc tggaatgtgg caatgcctcc tgagcgatag cgggcaggtg 540

ctgttggaga gcaacatcaa ggttttgcca gcagcc 576

<210> 32

<211> 192

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 32

Ile Val Val Leu Ala Phe Gln Lys Ala Ser Ser Ile Val Tyr Lys Lys

1 5 10 15

Glu Gly Glu Gln Val Glu Phe Ser Phe Pro Leu Ala Phe Thr Val Glu

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Lys Ser Trp Ile Thr Phe Asp Leu Lys Asn Lys Glu Val Ser

50 55 60

Val Lys Arg Val Thr Gln Asp Pro Lys Leu Gln Met Gly Lys Lys Leu

65 70 75 80

Pro Leu His Leu Thr Leu Pro Gln Ala Leu Pro Gln Tyr Ala Gly Ser

85 90 95

Gly Asn Leu Thr Leu Ala Leu Glu Ala Lys Thr Gly Lys Leu His Gln

100 105 110

Glu Val Asn Leu Val Val Met Arg Ala Thr Gln Leu Gln Lys Asn Leu

115 120 125

Thr Cys Glu Val Trp Gly Pro Thr Ser Pro Lys Leu Met Leu Ser Leu

130 135 140

Lys Leu Glu Asn Lys Glu Ala Lys Val Ser Lys Arg Glu Lys Ala Val
145 150 155 160

Trp Val Leu Asn Pro Glu Ala Gly Met Trp Gln Cys Leu Leu Ser Asp
165 170 175

Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Ala Ala
180 185 190

<210> 33

<211> 801

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 33

atggattttc aggtgcagat tttcagcttc ctgctaatca gtgcctcagt cataatgtct 60

agagacatcg tgctgaccca gagcccccc agcctggcca tgtctctggg caagagagcc 120

accatcagct gccgggccag cgagagcgtg accatcctgg gcagccacct gatccactgg 180

tatcagcaga agcccggcca gccccccacc ctgctgatcc agctcgccag caatgtgcag 240

accggcgtgc ccgccagatt cagcggcagc ggcagcagaa ccgacttcac cctgaccatc 300

gaccccgtgg aagaggacga cgtggccgtg tactactgcc tgcagagccg gaccatcccc 360

cggacctttg gcggaggcac caaactggaa atcaagggca gcaccagcgg ctccggcaag 420

cctggctctg gcgagggcag cacaaaggga cagattcagc tggtgcagag cggccctgag 480

ctgaagaaac ccggcgagac agtgaagatc agctgcaagg cctccggcta caccttcacc 540

gactacagca tcaactgggt gaaaagagcc cctggcaagg gcctgaagtg gatgggctgg 600

atcaacaccg agacaagaga gcccgcctac gcctacgact tccggggcag attcgccttc 660

agcctggaaa ccagcgccag caccgcctac ctgcagatca acaacctgaa gtacgaggac 720

accgccacct acttttgcgc cctggactac agctacgcca tggactactg gggccagggc 780

accagcgtga ccgtgtccag c 801

<210> 34

<211> 267

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 34

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu
20 25 30

Ala Met Ser Leu Gly Lys Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu
35 40 45

Ser Val Thr Ile Leu Gly Ser His Leu Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys
50 55 60

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

Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Thr Ile Asp Pro Val Glu Glu Asp Asp Val Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Leu Gln Ser Arg Thr Ile Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
130 135 140

Glu Gly Ser Thr Lys Gly Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu
145 150 155 160

Leu Lys Lys Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly
165 170 175

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ser Ile Asn Trp Val Lys Arg Ala Pro Gly
180 185 190

Lys Gly Leu Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Glu Thr Arg Glu Pro
195 200 205

Ala Tyr Ala Tyr Asp Phe Arg Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr

210 215 220

Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Tyr Glu Asp

225 230 235 240

Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Leu Asp Tyr Ser Tyr Ala Met Asp Tyr

245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

260 265

<210> 35

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 35

gatatccaga tgactcagac gacctcatca ttgtccgcca gtttggggga cagggttaca 60

atatcctgcc gggcgagcca agacatcagt aaatatctta attggtacca gcagaaacca 120

gatggtacag taaaacttct tatctaccac acctctcggc tccactctgg ggttccctct 180

aggttcagtg gtagtgggtc aggcaccgac tacagcctta cgataagcaa cttggaacag 240

gaggatatcg caacttactt ctgccaacag ggaaataccc tgccttacac gttcggtgga 300

ggcactaaac tggagatcac tgggtcaacc tctggtagcg gtaagcctgg ctccggcgaa 360

ggctccacaa agggtgaggt gaaactccaa gagtcaggtc ccggtttggt agccccctca 420

caaagtttgt cagttacttg taccgtaagc ggcgtttccc tgcccgatta cggtgtgagc 480

tggataaggc agccaccgag aaaaggtctt gaatggctgg gagtgatctg ggggtctgag 540

acaacgtatt acaactcagc tcttaagagc aggcttacga tcattaaaga taacagcaaa 600

tctcaagtgt tcctcaaaat gaatagcctt caaactgatg atactgccat ctattattgt 660

gctaagcatt attactatgg cggcagttac gcaatggatt attgggggca aggtacctca 720

gtcactgtaa gcagc 735

<210> 36

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 36

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

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

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

Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn
195 200 205
Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr
210 215 220
Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 37

<211> 237

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 37

ctcgagctga ggcccgaggc ttctagacct gctgccggcg gagccgtgca caccagaggc 60

ctggacttcg ccagcgacat ctacatctgg gcccctctgg ccggcacctg tggcgtgctg 120

ctgctgagcc tggtcatcac cctgtactgc aaccaccgga accggcggag agtgtgcaag 180

tgccccagac ccgtggtcaa gagcggcgac aagcccagcc tgagcgccag atacgtg 237

<210> 38

<211> 79

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 38

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

1 5 10 15

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Ser Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro

20 25 30

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu

35 40 45

Tyr Cys Asn His Arg Asn Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro

50 55 60

Val Val Lys Ser Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val

65 70 75

<210> 39

<211> 234

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 39

ctcgagctga ggcccgaggc ttctagacct gctgccggcg gagccgtgca caccagaggc 60

ctggacttcg ccagcgacat ctacatctgg gcccctctgg ccggcacctg tggcgtgctg 120

ctgctgagcc tggtcatcac cctgtacctg tgctgcagac ggcggagagt gtgcaagtgc 180

cccagacccg tggtcaagag cggcgacaag cccagcctga gcgccagata cgtg 234

<210> 40

<211> 78

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 40

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

His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Ser Asp Ile Tyr Ile Trp Ala Pro
20 25 30

Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val Ile Thr Leu
35 40 45

Tyr Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Val Cys Lys Cys Pro Arg Pro Val
50 55 60

Val Lys Ser Gly Asp Lys Pro Ser Leu Ser Ala Arg Tyr Val
65 70 75

<210> 41

<211> 213

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 41

ctcgagaaga agtccaccct gaagaaacgg gtgtcccggc tgcccagacc cgagacacag 60

aagggccccc tgagcagccc tatcaccctg ggactgctgg tggccggcgt gctggtgctg 120

ctggtgtctc tgggagtggc catccacctg tgctgccggc ggagaagggc ctgcaagtgc 180

cccagactgc ggttcatgaa gcagttctac aag 213

<210> 42

<211> 71

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 42

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

Pro Glu Thr Gln Lys Gly Pro Leu Ser Ser Pro Ile Thr Leu Gly Leu
20 25 30

Leu Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly Val Ala Ile
35 40 45

His Leu Cys Cys Arg Arg Arg Arg Ala Cys Lys Cys Pro Arg Leu Arg
50 55 60

Phe Met Lys Gln Phe Tyr Lys
65 70

<210> 43

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 43

atggatatcc agatgaccca gtccccgagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 60

accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 120

ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 180

tctcgcttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 240

ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga 300

cagggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 360

ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tggtgcagcc agggggctca 420

ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 480

cgtcaggccc caggtaaggg cctggaatgg gttgcactga ttaatcctta taaaggtgtt 540

agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac 600

acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 660

agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtggggtca aggaaccctg 720

gtcaccgtct cctcg 735

<210> 44

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 44

Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
20 25 30

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val

115 120 125

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

Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr
210 215 220
Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu
225 230 235 240
Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 45

<211> 735

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223

> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide

<400> 45

atggatatcc agatgaccca gtccccgagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 60

accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 120

ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 180

tctcgcttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 240

ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga 300

cagggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 360

ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tggtgcagcc agggggctca 420

ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 480

cgtcaggccc caggtaaggg cctggaatgg gttgcactga ttaatcctac caaaggtgtt 540

agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac 600

acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 660

agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtggggtca aggaaccctg 720

gtcaccgtct cctcg 735

<210> 46

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 46

Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
20 25 30

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
115 120 125

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
130 135 140

Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val

145 150 155 160

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro

165 170 175

Thr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr

180 185 190

Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu

225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser

245

<210> 47

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

oligonucleotide

<400> 47

atggagaccc ccgcccagct gctgttcctg ctgctgctgt ggctgcccga caccaccggc 60

<210> 48

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 48

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly

20

<210> 49

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 49

atggctttgc ctgtcacggc tcttctgctc cctctggccc tgcttctgca cgcggcgcga 60

ccc 63

<210> 50

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 50

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 51

<211> 732

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 51

gaggtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ctggtgcagc ctggcggctc cctgaggctg 60

tcttgcgcag caagcggctt caacatctac tatagctaca tgcactgggt gcgccaggcc 120

cctggcaagg gcctggagtg ggtggcctcc atctctccat actatggcta cacctcctat 180

gccgactctg tgaagggccg gtttacaatc agcgccgata cctccaagaa cacagcctat 240

ctgcagatga attccctgag ggcagaggac accgccgtgt actattgcgc cagacacggc 300

tacgccctgg attattgggg ccagggcacc ctggtgacag tgagctccgg cagcacatcc 360

ggatctggca agccaggctc tggagaggga agcaccaagg gcgacatcca gatgacacag 420

tccccatcta gcctgagcgc ctccgtgggc gatagggtga ccatcacatg tcgcgcctct 480

cagagcgtgt cctctgccgt ggcatggtac cagcagaagc ccggcaaggc ccctaagctg 540

ctgatctaca gcgccagctc cctgtattcc ggcgtgcctt ctcggttctc cggctctaga 600

agcggcaccg actttaccct gacaatctct agcctgcagc ccgaggattt cgccacatac 660

tattgtcagc agagcgtgtg ggtgggctac tccctgatca cctttggcca gggcacaaag 720

gtggagatca ag 732

<210> 52

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Tyr Tyr Ser
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
115 120 125

Glu Gly Ser Thr Lys Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
145 150 155 160

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

Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
225 230 235 240
Val Glu Ile Lys

<210> 53
<211> 732
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide
<400> 53
gacatccaga tgacacagtc cccaagctcc ctgtccgcct ctgtgggcga tagggtgacc 60
atcacatgca gggcaagcca gtccgtgtct agcgccgtgg catggtacca gcagaagccc 120
ggcaaggccc ctaagctgct gatctacagc gcctcctctc tgtattccgg cgtgccatct 180

cggttctctg gcagcagatc cggcaccgac tttaccctga caatcagctc cctgcagccc 240
gaggatttcg ccacatacta ttgccagcag agcgtgtggg tgggctactc cctgatcacc 300
tttggccagg gcacaaaggt ggagatcaag ggatctacca gcggatccgg caagcctggc 360
agcggagagg gatccacaaa gggagaggtg cagctggtgg agtctggagg aggcctggtg 420
cagcctggcg gctctctgag gctgagctgt gcagcatccg gcttcaacat ctactatagc 480
tacatgcact gggtgcgcca ggcccccggc aagggcctgg agtgggtggc ctctatcagc 540
ccttactatg gctacacctc ttatgccgac agcgtgaagg gccggtttac aatctccgcc 600

gatacctcta agaacacagc ctatctgcag atgaattccc tgagggcaga ggacaccgcc 660

gtgtactatt gtgccagaca cggctacgcc ctggattatt ggggccaggg caccctggtg 720

acagtgtcta gc 732

<210> 54

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 54

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr
85 90 95

Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Ser
100 105 110

Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Tyr Tyr Ser
145 150 155 160

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220
Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
225 230 235 240
Thr Val Ser Ser

<210> 55
<211> 1905
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide
<400> 55
atggccctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgccgccaga 60

cccgaggtgc agctggtgga gtctggagga ggcctggtgc agcctggcgg ctccctgagg 120
ctgtcttgcg cagcaagcgg cttcaacatc tactatagct acatgcactg ggtgcgccag 180
gcccctggca agggcctgga gtgggtggcc tccatctctc catactatgg ctacacctcc 240
tatgccgact ctgtgaaggg ccggtttaca atcagcgccg atacctccaa gaacacagcc 300
tatctgcaga tgaattccct gagggcagag gacaccgccg tgtactattg cgccagacac 360
ggctacgccc tggattattg gggccagggc accctggtga cagtgagctc cggcagcaca 420
tccggatctg gcaagccagg ctctggagag ggaagcacca agggcgacat ccagatgaca 480

cagtccccat ctagcctgag cgcctccgtg ggcgataggg tgaccatcac atgtcgcgcc 540
tctcagagcg tgtcctctgc cgtggcatgg taccagcaga agcccggcaa ggcccctaag 600
ctgctgatct acagcgccag ctccctgtat tccggcgtgc cttctcggtt ctccggctct 660
agaagcggca ccgactttac cctgacaatc tctagcctgc agcccgagga tttcgccaca 720
tactattgtc agcagagcgt gtgggtgggc tactccctga tcacctttgg ccagggcaca 780
aaggtggaga tcaaggagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cggggccgaa 840

gcagcagcaa aggaggccgc agcgaaggaa gcagctgcga aggccggatc catggatatc 900

cagatgaccc agtccccgag ctccctgtcc gcctctgtgg gcgatagggt caccatcacc 960
tgccgtgcca gtcaggacat ccgtaattat ctgaactggt atcaacagaa accaggaaaa 1020
gctccgaaac tactgattta ctatacctcc cgcctggagt ctggagtccc ttctcgcttc 1080
tctggttctg gttctgggac ggattacact ctgaccatca gcagtctgca accggaagac 1140
ttcgcaactt attactgtca gcaaggtaat actctgccgt ggacgttcgg acagggcacc 1200
aaggtggaga tcaaaggcgg cggcggaagt ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc 1260
gaggttcagc tggtggagtc tggcggtggc ctggtgcagc cagggggctc actccgtttg 1320

tcctgtgcag cttctggcta ctcctttacc ggctacacta tgaactgggt gcgtcaggcc 1380
ccaggtaagg gcctggaatg ggttgcactg attaatcctt ataaaggtgt tagtacctac 1440
aaccagaagt tcaaggaccg tttcactata agcgtagata aatccaaaaa cacagcctac 1500
ctgcaaatga acagcctgcg tgctgaggac actgccgtct attattgtgc tagaagcgga 1560
tactacggcg atagtgactg gtattttgac gtgtggggtc aaggaaccct ggtcaccgtc 1620
tcctcgacta gtggcggagg aggatcactc gagagcggac aggtgctgct ggaatccaat 1680
atcaaagtcc tgcccacttg gtctaccccc gtgcagccta tggctctgat tgtgctggga 1740

ggagtcgcag gactgctgct gtttatcggg ctgggaattt tcttttgcgt gcgctgccgg 1800
caccggagaa ggcaggccga gcgcatgagc cagatcaagc gactgctgag cgagaagaaa 1860
acctgtcagt gtccccatag attccagaag acctgttcac ccatt 1905

<210> 56
<211> 635
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide
<400> 56

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
20 25 30
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
35 40 45

```
Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
    50                  55                  60
Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser
65                  70                  75                  80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser
                85                  90                  95
Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
            100                 105                 110
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly
    130                 135                 140

Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Asp Ile Gln Met Thr
145                 150                 155                 160
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
                165                 170                 175
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln
            180                 185                 190
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser
        195                 200                 205

Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr
    210                 215                 220
Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
225                 230                 235                 240
Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe
                245                 250                 255
Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
            260                 265                 270

Glu Asp Leu Asn Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
        275                 280                 285
Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln
```

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln

325 330 335

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu

340 345 350

Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

355 360 365

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr

370 375 380

Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr

385 390 395 400

Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

405 410 415

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

420 425 430

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser

435 440 445

Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys

485 490 495

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

500 505 510

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr

515 520 525

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser

530 535 540

Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn
545 550 555 560
Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu
565 570 575
Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly
580 585 590

Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg
595 600 605
Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys
610 615 620
Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
625 630 635

<210> 57

<211> 1905

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 57

atggccctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgccgcccgg 60
cctgacatcc agatgacaca gtccccaagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtg 120
accatcacat gcagggcaag ccagtccgtg tctagcgccg tggcatggta ccagcagaag 180
cccggcaagg cccctaagct gctgatctac agcgcctcct ctctgtattc cggcgtgcca 240
tctcggttct ctggcagcag atccggcacc gactttaccc tgacaatcag ctccctgcag 300
cccgaggatt tcgccacata ctattgccag cagagcgtgt gggtgggcta ctccctgatc 360
acctttggcc agggcacaaa ggtggagatc aagggatcta ccagcggatc cggcaagcct 420

ggcagcggag agggatccac aaagggagag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcctg 480
gtgcagcctg gcggctctct gaggctgagc tgtgcagcat ccggcttcaa catctactat 540
agctacatgc actgggtgcg ccaggccccc ggcaagggcc tggagtgggt ggcctctatc 600
agcccttact atggctacac ctcttatgcc gacagcgtga agggccggtt tacaatctcc 660
gccgatacct ctaagaacac agcctatctg cagatgaatt ccctgagggc agaggacacc 720
gccgtgtact attgtgccag acacggctac gccctggatt attggggcca gggcaccctg 780

gtgacagtgt ctagcgagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cggggccgaa 840

gcagcagcaa aggaggccgc agcgaaggaa gcagctgcga aggccggatc catggatatc 900

cagatgaccc agtccccgag ctccctgtcc gcctctgtgg gcgatagggt caccatcacc 960

tgccgtgcca gtcaggacat ccgtaattat ctgaactggt atcaacagaa accaggaaaa 1020

gctccgaaac tactgattta ctatacctcc cgcctggagt ctggagtccc ttctcgcttc 1080

tctggttctg gttctgggac ggattacact ctgaccatca gcagtctgca accggaagac 1140

ttcgcaactt attactgtca gcaaggtaat actctgccgt ggacgttcgg acagggcacc 1200

aaggtggaga tcaaaggcgg cggcggaagt ggaggaggag gctcaggcgg aggagggagc 1260

gaggttcagc tggtggagtc tggcggtggc ctggtgcagc cagggggctc actccgtttg 1320

tcctgtgcag cttctggcta ctcctttacc ggctacacta tgaactgggt gcgtcaggcc 1380

ccaggtaagg gcctggaatg ggttgcactg attaatcctt ataaaggtgt tagtacctac 1440

aaccagaagt tcaaggaccg tttcactata agcgtagata aatccaaaaa cacagcctac 1500

ctgcaaatga acagcctgcg tgctgaggac actgccgtct attattgtgc tagaagcgga 1560

tactacggcg atagtgactg gtattttgac gtgtggggtc aaggaaccct ggtcaccgtc 1620

tcctcgacta gtggcggagg aggatcactc gagagcggac aggtgctgct ggaatccaat 1680

atcaaagtcc tgcccacttg gtctaccccc gtgcagccta tggctctgat tgtgctggga 1740

ggagtcgcag gactgctgct gtttatcggg ctgggaattt tcttttgcgt gcgctgccgg 1800

caccggagaa ggcaggccga gcgcatgagc cagatcaagc gactgctgag cgagaagaaa 1860

acctgtcagt gtccccatag attccagaag acctgttcac ccatt 1905

<210> 58

<211> 635

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 58

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu

20 25 30

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln

35 40 45

Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

50 55 60

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

85 90 95

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser

100 105 110

Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val

115 120 125

Glu Ile Lys Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu

130 135 140

Gly Ser Thr Lys Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu

145 150 155 160

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

165 170 175

Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

180 185 190

Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser

195 200 205

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser

210 215 220

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

225 230 235 240

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly

245 250 255

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu

260 265 270

Glu Asp Leu Asn Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala

275 280 285

Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Gly Ser Met Asp Ile Gln Met Thr Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln

325 330 335

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu

340 345 350

Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

355 360 365

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr

370 375 380

Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr

385 390 395 400

Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

405 410 415

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

420 425 430

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser

435 440 445

Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly

450 455 460

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

465 470 475 480

Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys

485 490 495

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

500 505 510

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr

515 520 525

Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser

530 535 540

Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn

545 550 555 560

Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu

565 570 575

Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly

580 585 590

Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg

595 600 605

Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys

610 615 620

Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile

625 630 635

<210> 59

<211> 1914

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 59

atggccctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgccgccaga 60

cccgaggtgc agctggtgga gtctggagga ggcctggtgc agcctggcgg ctccctgagg 120

ctgtcttgcg cagcaagcgg cttcaacatc tactatagct acatgcactg ggtgcgccag 180

gcccctggca agggcctgga gtgggtggcc tccatctctc catactatgg ctacacctcc 240

tatgccgact ctgtgaaggg ccggtttaca atcagcgccg atacctccaa gaacacagcc 300

tatctgcaga tgaattccct gagggcagag gacaccgccg tgtactattg cgccagacac 360

ggctacgccc tggattattg gggccagggc accctggtga cagtgagctc cggcagcaca 420

tccggatctg gcaagccagg ctctggagag ggaagcacca agggcgacat ccagatgaca 480

cagtccccat ctagcctgag cgcctccgtg ggcgataggg tgaccatcac atgtcgcgcc 540

tctcagagcg tgtcctctgc cgtggcatgg taccagcaga agcccggcaa ggcccctaag 600

ctgctgatct acagcgccag ctccctgtat tccggcgtgc cttctcggtt ctccggctct 660

agaagcggca ccgactttac cctgacaatc tctagcctgc agcccgagga tttcgccaca 720

tactattgtc agcagagcgt gtgggtgggc tactccctga tcacctttgg ccagggcaca 780

aaggtggaga tcaaggagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cgggggagga 840

ggagggagcg ggggaggagg cagcggcggg ggaggctctg gaggaggagg gagcggatcc 900

atggatatcc agatgaccca gtccccgagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 960

accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 1020

ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 1080

tctcgcttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 1140

ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga 1200

cagggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 1260

ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tggtgcagcc agggggctca 1320

ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 1380

cgtcaggccc caggtaaggg cctggaatgg gttgcactga ttaatcctta taaaggtgtt 1440

agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac 1500

acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 1560

agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtggggtca aggaaccctg 1620

gtcaccgtct cctcgactag tggcggagga ggatcactcg agagcggaca ggtgctgctg 1680

gaatccaata tcaaagtcct gcccacttgg tctacccccg tgcagcctat ggctctgatt 1740

gtgctgggag gagtcgcagg actgctgctg tttatcgggc tgggaatttt cttttgcgtg 1800

cgctgccggc accggagaag gcaggccgag cgcatgagcc agatcaagcg actgctgagc 1860

gagaagaaaa cctgtcagtg tccccataga ttccagaaga cctgttcacc catt 1914

<210> 60

<211> 638

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 60

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe

35 40 45

Asn Ile Tyr Tyr Ser Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Ser Pro Tyr Tyr Gly Tyr Thr Ser

65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser

85 90 95

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

100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gly Tyr Ala Leu Asp Tyr Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly

130 135 140

Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr Lys Gly Asp Ile Gln Met Thr

145 150 155 160

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile

165 170 175

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln

180 185 190

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser

195 200 205

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

210 215 220

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr

225 230 235 240

Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Trp Val Gly Tyr Ser Leu Ile Thr Phe

245 250 255

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu

260 265 270

Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp

325 330 335

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr

340 345 350

Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser

355 360 365

Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe

370 375 380

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly

385 390 395 400

Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

405 410 415

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly

420 425 430

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

435 440 445

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro

450 455 460

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val

465 470 475 480

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

485 490 495

Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu

500 505 510

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser

515 520 525

Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
530 535 540
Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu
545 550 555 560
Glu Ser Asn Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro
565 570 575
Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile

580 585 590
Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln
595 600 605
Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr
610 615 620
Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
625 630 635

<210> 61

<211> 1914

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 61

atggccctgc cagtgaccgc cctgctgctg ccactggccc tgctgctgca cgccgcccgg 60
cctgacatcc agatgacaca gtccccaagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtg 120
accatcacat gcagggcaag ccagtccgtg tctagcgccg tggcatggta ccagcagaag 180
cccggcaagg cccctaagct gctgatctac agcgcctcct ctctgtattc cggcgtgcca 240
tctcggttct ctggcagcag atccggcacc gactttaccc tgacaatcag ctccctgcag 300
cccgaggatt tcgccacata ctattgccag cagagcgtgt gggtgggcta ctccctgatc 360

acctttggcc agggcacaaa ggtggagatc aagggatcta ccagcggatc cggcaagcct 420
ggcagcggag agggatccac aaagggagag gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcctg 480
gtgcagcctg gcggctctct gaggctgagc tgtgcagcat ccggcttcaa catctactat 540
agctacatgc actgggtgcg ccaggccccc ggcaagggcc tggagtgggt ggcctctatc 600
agcccttact atggctacac ctcttatgcc gacagcgtga agggccggtt tacaatctcc 660

gccgatacct ctaagaacac agcctatctg cagatgaatt ccctgagggc agaggacacc 720

gccgtgtact attgtgccag acacggctac gccctggatt attggggcca gggcaccctg 780

gtgacagtgt ctagcgagca gaagctgatc agcgaggagg acctgaatcc cgggggagga 840

ggagggagcg ggggaggagg cagcggcggg ggaggctctg gaggaggagg gagcggatcc 900

atggatatcc agatgaccca gtccccgagc tccctgtccg cctctgtggg cgatagggtc 960

accatcacct gccgtgccag tcaggacatc cgtaattatc tgaactggta tcaacagaaa 1020

ccaggaaaag ctccgaaact actgatttac tatacctccc gcctggagtc tggagtccct 1080

tctcgcttct ctggttctgg ttctgggacg gattacactc tgaccatcag cagtctgcaa 1140

ccggaagact tcgcaactta ttactgtcag caaggtaata ctctgccgtg gacgttcgga 1200

cagggcacca aggtggagat caaaggcggc ggcggaagtg gaggaggagg ctcaggcgga 1260

ggagggagcg aggttcagct ggtggagtct ggcggtggcc tggtgcagcc agggggctca 1320

ctccgtttgt cctgtgcagc ttctggctac tcctttaccg gctacactat gaactgggtg 1380

cgtcaggccc caggtaaggg cctggaatgg gttgcactga ttaatcctta taaaggtgtt 1440

agtacctaca accagaagtt caaggaccgt ttcactataa gcgtagataa atccaaaaac 1500

acagcctacc tgcaaatgaa cagcctgcgt gctgaggaca ctgccgtcta ttattgtgct 1560

agaagcggat actacggcga tagtgactgg tattttgacg tgtggggtca aggaaccctg 1620

gtcaccgtct cctcgactag tggcggagga ggatcactcg agagcggaca ggtgctgctg 1680

gaatccaata tcaaagtcct gcccacttgg tctacccccg tgcagcctat ggctctgatt 1740

gtgctgggag gagtcgcagg actgctgctg tttatcgggc tgggaatttt cttttgcgtg 1800

cgctgccggc accggagaag gcaggccgag cgcatgagcc agatcaagcg actgctgagc 1860

gagaagaaaa cctgtcagtg tccccataga ttccagaaga cctgttcacc catt 1914

<210> 62

<211> 638

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 62

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu

```
            20                  25                  30
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
        35                  40                  45
Ser Val Ser Ser Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
    50                  55                  60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
            260                 265                 270
```

Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
275 280 285
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile Gln
290 295 300
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
305 310 315 320

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp
325 330 335
Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr
340 345 350
Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
355 360 365
Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
370 375 380

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly
385 390 395 400
Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
405 410 415
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
420 425 430
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
435 440 445

Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
450 455 460
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val
465 470 475 480
Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp
485 490 495
Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu
500 505 510

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser

515 520 525

Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

530 535 540

Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu

545 550 555 560

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

565 570 575

Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile

580 585 590

Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln

595 600 605

Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr

610 615 620

Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile

625 630 635

<210> 63

<211> 1917

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 63

atggctttgc ctgtcacggc tcttctgctc cctctggccc tgcttctgca cgcggcgcga 60

cccgatatcc agatgactca gacgacctca tcattgtccg ccagtttggg ggacagggtt 120

acaatatcct gccgggcgag ccaagacatc agtaaatatc ttaattggta ccagcagaaa 180

ccagatggta cagtaaaact tcttatctac cacacctctc ggctccactc tggggttccc 240

tctaggttca gtggtagtgg gtcaggcacc gactacagcc ttacgataag caacttggaa 300

caggaggata tcgcaactta cttctgccaa cagggaaata ccctgcctta cacgttcggt 360

ggaggcacta aactggagat cactgggtca acctctggta gcggtaagcc tggctccggc 420

gaaggctcca caaagggtga ggtgaaactc caagagtcag gtcccggttt ggtagccccc 480

tcacaaagtt tgtcagttac ttgtaccgta agcggcgttt ccctgcccga ttacggtgtg 540

agctggataa ggcagccacc gagaaaaggt cttgaatggc tgggagtgat ctgggggtct 600

gagacaacgt attacaactc agctcttaag agcaggctta cgatcattaa agataacagc 660

aaatctcaag tgttcctcaa aatgaatagc cttcaaactg atgatactgc catctattat 720

tgtgctaagc attattacta tggcggcagt tacgcaatgg attattgggg gcaaggtacc 780

tcagtcactg taagcagcga acagaagctc atttctgaag aagacctcaa ccccggaggg 840

ggaggggggaa gtgggggagg gggtagtggt ggcggaggat caggcggggg gggatcagga 900

tccatggata tccagatgac ccagtccccg agctccctgt ccgcctctgt gggcgatagg 960

gtcaccatca cctgccgtgc cagtcaggac atccgtaatt atctgaactg gtatcaacag 1020

aaaccaggaa aagctccgaa actactgatt tactatacct cccgcctgga gtctggagtc 1080

ccttctcgct tctctggttc tggttctggg acggattaca ctctgaccat cagcagtctg 1140

caaccggaag acttcgcaac ttattactgt cagcaaggta atactctgcc gtggacgttc 1200

ggacagggca ccaaggtgga gatcaaaggc ggcggcggaa gtggaggagg aggctcaggc 1260

ggaggaggga gcgaggttca gctggtggag tctggcggtg gcctggtgca gccaggggggc 1320

tcactccgtt tgtcctgtgc agcttctggc tactccttta ccggctacac tatgaactgg 1380

gtgcgtcagg ccccaggtaa gggcctggaa tgggttgcac tgattaatcc taccaaaggt 1440

gttagtacct acaaccagaa gttcaaggac cgtttcacta taagcgtaga taaatccaaa 1500

aacacagcct acctgcaaat gaacagcctg cgtgctgagg acactgccgt ctattattgt 1560

gctagaagcg gatactacgg cgatagtgac tggtattttg acgtgtgggg tcaaggaacc 1620

ctggtcaccg tctcctcgac tagtggcgga ggaggatcac tcgagagcgg acaggtgctg 1680

ctggaatcca atatcaaagt cctgcccact tggtctaccc ccgtgcagcc tatggctctg 1740

attgtgctgg gaggagtcgc aggactgctg ctgtttatcg ggctgggaat tttcttttgc 1800

gtgcgctgcc ggcaccggag aaggcaggcc gagcgcatga gccagatcaa gcgactgctg 1860

agcgagaaga aaacctgtca gtgtccccat agattccaga agacctgttc acccatt 1917

<210> 64

<211> 639

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

polypeptide

<400> 64

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

```
His Ala Ala Arg Pro Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu
            20                  25                  30
Ser Ala Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln
        35                  40                  45
Asp Ile Ser Lys Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr

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

        115                 120                 125
Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
    130                 135                 140
Lys Gly Glu Val Lys Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Ala Pro
145                 150                 155                 160
Ser Gln Ser Leu Ser Val Thr Cys Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro
                165                 170                 175
Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu

            180                 185                 190
Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala
        195                 200                 205
Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val
    210                 215                 220
Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
225                 230                 235                 240
Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

                245                 250                 255
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Glu Gln Lys Leu Ile Ser
```

260 265 270

Glu Glu Asp Leu Asn Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

275 280 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Met Asp Ile

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn

325 330 335

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr

340 345 350

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

355 360 365

Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp

370 375 380

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe

385 390 395 400

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

405 410 415

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly

420 425 430

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

435 440 445

Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala

450 455 460

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Thr Lys Gly

465 470 475 480

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

485 490 495

Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala

500 505 510

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp
515 520 525

Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
530 535 540

Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu
545 550 555 560

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

565 570 575

Pro Met Ala Leu Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe
580 585 590

Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg
595 600 605

Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys
610 615 620

Thr Cys Gln Cys Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile

625 630 635

<210> 65

<211> 1566

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 65

atggagaccc ccgcccagct gctgttcctg ctgctgctgt ggctgcccga caccaccggc 60

atgtcacggg gctccgacct gggcaaaaag ctgctggagg ccgctagggc cgggcaggac 120

gatgaagtga gaatcctgat ggccaacggg gctgacgtga atgctaagga tgagtacggc 180

ctgacccccc tgtatctggc tacagcacac ggccatctgg agatcgtgga agtcctgctg 240

aaaaacggag ccgacgtgaa tgcagtcgat gccattgggt tcactcctct gcacctggca 300

gcctttatcg gacatctgga gattgcagaa gtgctgctga agcacggcgc tgacgtgaac 360

gcacaggata agttcggaaa aaccgctttt gacatcagca ttggcaacgg aaatgaagac 420

ctggctgaaa tcctgcagaa actgaatgaa cagaaactga ttagcgaaga agacctgaac 480

cccgggggag gaggagggag cgggggagga ggcagcggcg ggggaggctc tggaggagga 540

gggagcggat ccatggatat ccagatgacc cagtccccga gctccctgtc cgcctctgtg 600

ggcgataggg tcaccatcac ctgccgtgcc agtcaggaca tccgtaatta tctgaactgg 660

tatcaacaga aaccaggaaa agctccgaaa ctactgattt actatacctc ccgcctggag 720

tctggagtcc cttctcgctt ctctggttct ggttctggga cggattacac tctgaccatc 780

agcagtctgc aaccggaaga cttcgcaact tattactgtc agcaaggtaa tactctgccg 840

tggacgttcg gacagggcac caaggtggag atcaaaggcg gcggcggaag tggaggagga 900

ggctcaggcg gaggagggag cgaggttcag ctggtggagt ctggcggtgg cctggtgcag 960

ccaggggct cactccgttt gtcctgtgca gcttctggct actcctttac cggctacact 1020

atgaactggg tgcgtcaggc cccaggtaag ggcctggaat gggttgcact gattaatcct 1080

tataaaggtg ttagtaccta caaccagaag ttcaaggacc gtttcactat aagcgtagat 1140

aaatccaaaa acacagccta cctgcaaatg aacagcctgc gtgctgagga cactgccgtc 1200

tattattgtg ctagaagcgg atactacggc gatagtgact ggtattttga cgtgtggggt 1260

caaggaaccc tggtcaccgt ctcctcgact agtggcggag gaggatcact cgagagcgga 1320

caggtgctgc tggaatccaa tatcaaagtc ctgcccactt ggtctacccc cgtgcagcct 1380

atggctctga ttgtgctggg aggagtcgca ggactgctgc tgtttatcgg gctgggaatt 1440

ttcttttgcg tgcgctgccg gcaccggaga aggcaggccg agcgcatgag ccagatcaag 1500

cgactgctga gcgagaagaa aacctgtcag tgtccccata gattccagaa gacctgttca 1560

cccatt 1566

<210> 66

<211> 522

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 66

Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
1 5 10 15

Asp Thr Thr Gly Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu
20 25 30

Glu Ala Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala
35 40 45

Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu
50 55 60
Tyr Leu Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu
65 70 75 80
Lys Asn Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro
85 90 95

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

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

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu
225 230 235 240
Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
245 250 255
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
260 265 270
Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
275 280 285

Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

290 295 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305 310 315 320
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe
325 330 335
Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
340 345 350

Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn
355 360 365
Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn
370 375 380
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
385 390 395 400
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe
405 410 415

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly
420 425 430
Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile
435 440 445
Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile
450 455 460
Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile
465 470 475 480

Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met
485 490 495
Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro
500 505 510
His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
515 520

<210> 67

<211> 1569

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 67

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccgatgtcac ggggctccga cctgggcaaa aagctgctgg aggccgctag ggccgggcag 120

gacgatgaag tgagaatcct gatggccaac ggggctgacg tgaatgctaa ggatgagtac 180

ggcctgaccc ccctgtatct ggctacagca cacggccatc tggagatcgt ggaagtcctg 240

ctgaaaaacg gagccgacgt gaatgcagtc gatgccattg ggttcactcc tctgcacctg 300

gcagccttta tcggacatct ggagattgca gaagtgctgc tgaagcacgg cgctgacgtg 360

aacgcacagg ataagttcgg aaaaaccgct tttgacatca gcattggcaa cggaaatgaa 420

gacctggctg aaatcctgca gaaactgaat gaacagaaac tgattagcga agaagacctg 480

aaccccgggg gaggaggagg gagcgggggga ggaggcagcg gcgggggagg ctctggagga 540

ggagggagcg gatccatgga tatccagatg acccagtccc cgagctccct gtccgcctct 600

gtgggcgata gggtcaccat cacctgccgt gccagtcagg acatccgtaa ttatctgaac 660

tggtatcaac agaaaccagg aaaagctccg aaactactga tttactatac ctcccgcctg 720

gagtctggag tcccttctcg cttctctggt tctggttctg ggacggatta cactctgacc 780

atcagcagtc tgcaaccgga agacttcgca acttattact gtcagcaagg taatactctg 840

ccgtggacgt tcggacaggg caccaaggtg gagatcaaag gcggcggcgg aagtggagga 900

ggaggctcag gcggaggagg gagcgaggtt cagctggtgg agtctggcgg tggcctggtg 960

cagccagggg gctcactccg tttgtcctgt gcagcttctg gctactcctt taccggctac 1020

actatgaact gggtgcgtca ggccccaggt aagggcctgg aatgggttgc actgattaat 1080

ccttataaag gtgttagtac ctacaaccag aagttcaagg accgtttcac tataagcgta 1140

gataaatcca aaaacacagc ctacctgcaa atgaacagcc tgcgtgctga ggacactgcc 1200

gtctattatt gtgctagaag cggatactac ggcgatagtg actggtattt tgacgtgtgg 1260

ggtcaaggaa ccctggtcac cgtctcctcg actagtggcg gaggaggatc actcgagagc 1320

ggacaggtgc tgctggaatc caatatcaaa gtcctgccca cttggtctac ccccgtgcag 1380

cctatggctc tgattgtgct gggaggagtc gcaggactgc tgctgtttat cgggctggga 1440

attttctttt gcgtgcgctg ccggcaccgg agaaggcagg ccgagcgcat gagccagatc 1500

aagcgactgc tgagcgagaa gaaaacctgt cagtgtcccc atagattcca gaagacctgt 1560

tcacccatt 1569

<210> 68

<211> 523

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 68

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

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

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

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

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

Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser
325 330 335
Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
340 345 350
Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr
355 360 365
Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys
370 375 380

Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
385 390 395 400
Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr
405 410 415
Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser
420 425 430
Gly Gly Gly Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn

435 440 445

Ile Lys Val Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu
450 455 460
Ile Val Leu Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly
465 470 475 480
Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg
485 490 495
Met Ser Gln Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys
500 505 510

Pro His Arg Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
515 520

<210> 69
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide
<400> 69
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser
20
<210> 70
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide
<400> 70
ggaggaggag ggagcggggg aggaggcagc ggcgggggag gctctggagg aggagggagc 60
<210> 71
<211> 750

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

<400> 71

atggacatcc agatgactca gaccacaagc tccctgtctg caagtctggg cgaccgggtg 60

acaatctcct gcagagcctc tcaggatatt aggaactacc tgaattggta tcagcagaaa 120

cctgatggca cagtcaagct gctgatctac tataccagcc ggctgcactc aggcgtgcca 180

agcaaattct caggaagcgg ctccgggact gactactccc tgaccatctc taacctggag 240

caggaagata ttgctaccta tttctgccag cagggcaata cactgccctg gacttttgcc 300

ggaggcacca aactggagat caaggggga ggcgggagtg gaggcggggg atcaggagga 360

ggaggcagcg gaggaggagg gtccgaggtc cagctgcagc agagcggacc agaactggtg 420

aagcccggag caagtatgaa aatctcctgt aaggcctcag gatacagctt caccggctat 480

acaatgaact gggtgaaaca gtcccatggc aagaacctgg aatggatggg gctgattaat 540

cctaccaaag gcgtcagcac ctataatcag aagtttaaag acaaggccac actgactgtg 600

gataagtcta gttcaaccgc ttacatggag ctgctgtccc tgacatctga agacagtgcc 660

gtgtactatt gtgctcggtc tggctactat ggggacagtg attggtactt cgatgtctgg 720

ggacagggca ctaccctgac cgtgttttct 750

<210> 72

<211> 250

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 72

Met Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn
20 25 30

Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu
65 70 75 80
Gln Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro
85 90 95

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
225 230 235 240
Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Phe Ser
245 250

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 73

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

peptide

<400> 74

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

1 5 10 15

<210> 75

<211> 1560

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

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

polynucleotide

<400> 75

atggatttcc aggtccagat tttctccttc ctgctgattt ccgcaagcgt cattatgtca 60

cggggctccg acctgggcaa aaagctgctg gaggccgcta gggccgggca ggacgatgaa 120

gtgagaatcc tgatggccaa cggggctgac gtgaatgcta aggatgagta cggcctgacc 180

cccctgtatc tggctacagc acacggccat ctggagatcg tggaagtcct gctgaaaaac 240

ggagccgacg tgaatgcagt cgatgccatt gggttcactc ctctgcacct ggcagccttt 300

atcggacatc tggagattgc agaagtgctg ctgaagcacg gcgctgacgt gaacgcacag 360

gataagttcg gaaaaaccgc ttttgacatc agcattggca acggaaatga agacctggct 420

gaaatcctgc agaaactgaa tgaacagaaa ctgattagcg aagaagacct gaaccccggg 480

ggaggaggag ggagcggggg aggaggcagc ggcgggggag gctctggagg aggagggagc 540

ggatccatgg atatccagat gacccagtcc ccgagctccc tgtccgcctc tgtgggcgat 600

agggtcacca tcacctgccg tgccagtcag gacatccgta attatctgaa ctggtatcaa 660

cagaaaccag gaaaagctcc gaaactactg atttactata cctcccgcct ggagtctgga 720

gtcccttctc gcttctctgg ttctggttct gggacggatt acactctgac catcagcagt 780

ctgcaaccgg aagacttcgc aacttattac tgtcagcaag gtaatactct gccgtggacg 840

ttcggacagg gcaccaaggt ggagatcaaa ggcggcggcg gaagtggagg aggaggctca 900

ggcggaggag ggagcgaggt tcagctggtg gagtctggcg gtggcctggt gcagccaggg 960

ggctcactcc gtttgtcctg tgcagcttct ggctactcct ttaccggcta cactatgaac 1020

tgggtgcgtc aggccccagg taagggcctg gaatgggttg cactgattaa tccttataaa 1080

ggtgttagta cctacaacca gaagttcaag gaccgtttca ctataagcgt agataaatcc 1140

aaaaacacag cctacctgca aatgaacagc ctgcgtgctg aggacactgc cgtctattat 1200

tgtgctagaa gcggatacta cggcgatagt gactggtatt ttgacgtgtg gggtcaagga 1260

accctggtca ccgtctcctc gactagtggc ggaggaggat cactcgagag cggacaggtg 1320

ctgctggaat ccaatatcaa agtcctgccc acttggtcta cccccgtgca gcctatggct 1380

ctgattgtgc tgggaggagt cgcaggactg ctgctgttta tcgggctggg aattttcttt 1440

tgcgtgcgct gccggcaccg gagaaggcag gccgagcgca tgagccagat caagcgactg 1500

ctgagcgaga agaaaacctg tcagtgtccc catagattcc agaagacctg ttcacccatt 1560

<210> 76

<211> 520

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

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

<400> 76

Met Asp Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15

Val Ile Met Ser Arg Gly Ser Asp Leu Gly Lys Lys Leu Leu Glu Ala
20 25 30

Ala Arg Ala Gly Gln Asp Asp Glu Val Arg Ile Leu Met Ala Asn Gly
35 40 45

Ala Asp Val Asn Ala Lys Asp Glu Tyr Gly Leu Thr Pro Leu Tyr Leu
50 55 60

Ala Thr Ala His Gly His Leu Glu Ile Val Glu Val Leu Leu Lys Asn
65 70 75 80

Gly Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Ala Ile Gly Phe Thr Pro Leu His
85 90 95

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

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

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly
225 230 235 240
Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu
245 250 255
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
260 265 270
Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu
275 280 285

Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
290 295 300
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
305 310 315 320
Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly
325 330 335
Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

340 345 350

Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys
355 360 365
Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala
370 375 380
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
385 390 395 400
Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val
405 410 415

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Thr Ser Gly Gly Gly
420 425 430
Gly Ser Leu Glu Ser Gly Gln Val Leu Leu Glu Ser Asn Ile Lys Val
435 440 445
Leu Pro Thr Trp Ser Thr Pro Val Gln Pro Met Ala Leu Ile Val Leu
450 455 460
Gly Gly Val Ala Gly Leu Leu Leu Phe Ile Gly Leu Gly Ile Phe Phe
465 470 475 480

Cys Val Arg Cys Arg His Arg Arg Arg Gln Ala Glu Arg Met Ser Gln
485 490 495
Ile Lys Arg Leu Leu Ser Glu Lys Lys Thr Cys Gln Cys Pro His Arg
500 505 510
Phe Gln Lys Thr Cys Ser Pro Ile
515 520

<210> 77
<211> 45
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide
<400> 77
ggcggcggcg gaagtggagg aggaggctca ggcggaggag ggagc 45