



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0027578
(43) 공개일자 2024년03월04일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.) (71) 출원인
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01) 알테이아 사이언스 에스.알.엘.
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01) 이탈리아, 20122 밀라노, 비아 콘세르바토리오 30
C12N 5/0783 (2010.01) G01N 33/574 (2006.01) (72) 발명자
(52) CPC특허분류 피가찌, 마르티나
C07K 16/2896 (2013.01) 이탈리아, 35122 파도바, 비아 8 페브라이오 1848
A61K 39/4611 (2023.05) 넘버 2, 유니버시티 데글리 스테디 디 파도바
(21) 출원번호 10-2023-7038027 비피, 알레산드라
(22) 출원일자(국제) 2022년04월05일 이탈리아, 35122 파도바, 비아 8 페브라이오 1848
심사청구일자 없음 넘버 2, 유니버시티 데글리 스테디 디 파도바
(85) 번역문제출일자 2023년11월03일 (74) 대리인
(86) 국제출원번호 PCT/EP2022/059031 김영철, 김 순 영
(87) 국제공개번호 WO 2022/214499
국제공개일자 2022년10월13일
(30) 우선권주장
63/170,976 2021년04월05일 미국(US)

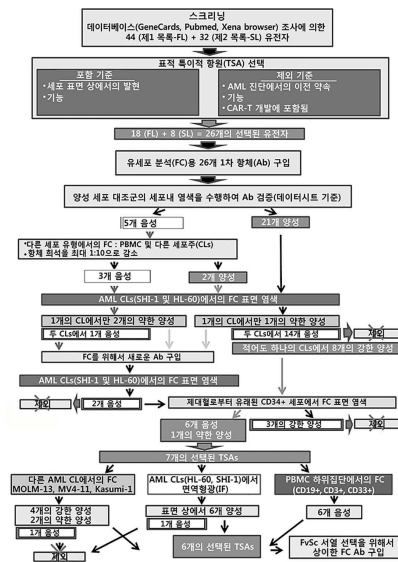
전체 청구항 수 : 총 105 항

(54) 발명의 명칭 **신규한 종양 특이적 항원을 이용한 골수성 장애 및 급성 백혈병의 진단 및 치료**

(57) 요약

본 개시내용은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 종양-특이적 항원을 사용함으로써 골수성 장애 및 급성 백혈병을 진단 또는 치료하는 방법에 관한 것이다. 추가로 상기 종양-특이적 항원을 표적화하는 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, 및 CAR, 및 이의 사용 방법이 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/4631 (2023.05)

A61K 39/4644 (2023.05)

A61P 35/00 (2018.01)

C07K 14/7051 (2013.01)

C07K 16/2851 (2013.01)

C12N 5/0636 (2023.05)

G01N 33/57426 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/73 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하는, 항원 결합 단백질 (ABP: antigen-binding protein).

청구항 2

제1항에 있어서, 인간 CD84에 특이적으로 결합하는 ABP.

청구항 3

제2항에 있어서, 서열번호 97, 서열번호 98, 또는 서열번호 90의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ABP.

청구항 4

제3항에 있어서,

a. 서열번호 51의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 61의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3;

b. 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3; 또는

c. 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함하는 ABP.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 서열번호 80의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 88의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;

b. 서열번호 81의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 88의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인; 또는

c. 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 ABP.

청구항 6

제1항에 있어서, 인간 CD69에 특이적으로 결합하는 ABP.

청구항 7

제6항에 있어서, 서열번호 89 내지 96으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ABP.

청구항 8

제6항 또는 제7항에 있어서,

a. 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 57의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 64의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3;

b. 서열번호 50의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 60의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 69의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 73의 서열을 갖는 V_H CDR3;

c. 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 65의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 70의 서열을 갖는 V_H CDR3;

d. 서열번호 46의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 53의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 56의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3;

e. 서열번호 48의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 58의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3;

f. 서열번호 49의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 59의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3;

g. 서열번호 49의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 59의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3; 또는

h. 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함하는 ABP.

청구항 9

제6항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,

a. 서열번호 76의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 85의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;

b. 서열번호 79의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 87의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;

- c. 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- d. 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 82의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- e. 서열번호 75의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 84의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- f. 서열번호 77의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 86의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- g. 서열번호 77의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 84의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- h. 서열번호 78의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 84의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인; 또는
- i. 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 ABP.

청구항 10

제1항에 있어서, 인간 CD69 및 CD84에 특이적으로 결합하는 ABP.

청구항 11

제10항에 있어서, 서열번호 36의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 ABP.

청구항 12

제10항 또는 제11항에 있어서,

서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함하는 ABP.

청구항 13

제10항에 있어서, 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함하는 ABP.

청구항 14

제1항에 있어서, 서열번호 89 내지 98로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 ABP.

청구항 15

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일쇄 항체 분자, 이중가변 도메인 항체, 단일가변 도메인 항체, 선형 항체 또는 V 도메인 항체를 포함하는 ABP.

청구항 16

제15항에 있어서, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일쇄 항체 분자, 이중가변 도메인 항체, 단일가변 도메인 항체, 선형 항체 또는 V 도메인 항체인 ABP.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 단클론성 항체인 ABP.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 항체로부터 선택되는 ABP.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, 클래스 IgG 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된 하위클래스의 중쇄 불변 영역을 포함하는 ABP.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 약물에 접합되는 ABP.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유도할 수 있으며, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하고, 인간 Fc를 포함하는 ABP.

청구항 22

제21항에 있어서, 인간, 인간화 또는 키메라 ABP인 ABP.

청구항 23

제21항 또는 제22항에 있어서, 단클론성인 ABP.

청구항 24

제1항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 이중특이적 또는 다중특이적인 ABP.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, IgG의 중쇄 불변 영역을 포함하는 ABP.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 아푸코실화되는(afucosylated) ABP.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, 표면 플라즈몬 공명(SPR: surface plasmon resonance) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D로 상기 표적 단백질에 결합하는 ABP.

청구항 28

ABP-약물 접합체로서, 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP, 상기 ABP에 연결된 세포독성제, 및 선택적으로

상기 세포독성제를 상기 ABP에 연결하는 링커를 포함하는, ABP-약물 접합체.

청구항 29

제28항에 있어서, 상기 세포독성제는 항혈관신생제(anti-angiogenic agent), 세포자멸사촉진제(pro-apoptotic agent), 항유사분열제(anti-mitotic agent), 항키나제 작용제(anti-kinase agent), 알킬화제, 호르몬, 호르몬 효능제, 호르몬 길항제, 케모카인, 약물, 전구약물, 독소, 효소, 항대사물질, 항생제, 알칼로이드, 또는 방사성 동위원소를 포함하는, ABP-약물 접합체.

청구항 30

제28항 또는 제29항에 있어서, 상기 링커는 절단 가능한 링커 또는 절단 가능하지 않은 링커인, ABP-약물 접합체.

청구항 31

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP 및 T-세포 활성화 도메인을 포함하는, 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE).

청구항 32

약학적 조성물로서, 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP, 제28항 내지 제30항 중 어느 한 항의 ABP-약물 접합체, 또는 제30항의 BiTE, 및 부형제를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 33

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP 또는 제31항의 BiTE를 암호화하는, 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 단리된 폴리뉴클레오티드의 세트.

청구항 34

제33항의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터 또는 벡터의 세트.

청구항 35

제33항의 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 제34항의 벡터를 포함하는, 숙주 세포.

청구항 36

단리된 항원 결합 단백질(ABP)의 생산 방법으로서, 제35항의 숙주 세포에서 상기 ABP를 발현시키는 것 및 상기 ABP를 단리시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 37

키메라 항원 수용체(CAR)로서,

- a. 세포의 항원-결합 도메인,
- b. 막관통 도메인,
- c. 신호전달 도메인, 및
- d. 선택적으로 적어도 하나의 공자극성 도메인을 포함하며,

상기 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하는, CAR.

청구항 38

제37항에 있어서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 상기 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함하는, CAR.

청구항 39

제37항에 있어서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP를 포함하는, CAR.

청구항 40

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포내 도메인을 포함하는, CAR.

청구항 41

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 공자극성 도메인을 추가로 포함하며, 상기 공자극성 도메인은 CD28 공자극성 도메인, 4-1BB 공자극성 도메인, CD27 공자극성 도메인, OX40 공자극성 도메인, 또는 ICOS 공자극성 도메인인, CAR.

청구항 42

제41항에 있어서, 상기 공자극성 도메인은 4-1BB 공자극성 도메인인, CAR.

청구항 43

제41항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 4-1BB 공자극성 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 44

제37항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인인, CAR.

청구항 45

제44항에 있어서, 상기 CD28 막관통 도메인은 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 46

제37항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지 영역을 추가로 포함하는 CAR.

청구항 47

제46항에 있어서, 상기 힌지 영역은 CD28 폴리펩티드로부터 유래된 힌지 영역인, CAR.

청구항 48

제47항에 있어서, 상기 힌지 영역은 서열번호 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 49

제37항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 신호전달 도메인은 CD3제타 신호전달 도메인인, CAR.

청구항 50

제49항에 있어서, 상기 CD3제타 신호전달 도메인은 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, CAR.

청구항 51

제37항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 35 내지 44로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CAR.

청구항 52

제37항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 인간 CD84에 특이적으로 결합하는, CAR.

청구항 53

제37항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 인간 CD69에 특이적으로 결합하는, CAR.

청구항 54

제37항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 35 내지 42로부터 선택된 아미노산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CAR.

청구항 55

제37항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 43, 44 또는 36의 아미노산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 CAR.

청구항 56

제37항 내지 제55항 중 어느 한 항의 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 57

제56항에 있어서, 서열번호 24 내지 34의 뉴클레오티드 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 58

제56항 내지 제57항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는, 벡터.

청구항 59

제37항 내지 제55항 중 어느 한 항의 CAR을 발현하는, 면역반응성 세포.

청구항 60

제56항의 폴리뉴클레오티드 또는 제58항의 벡터를 포함하는, 면역반응성 세포.

청구항 61

제59항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, $\alpha\beta$ T 세포, $\gamma\delta$ T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포인 면역반응성 세포.

청구항 62

제61항에 있어서, 상기 $\alpha\beta$ T 세포는 $CD4^+$ T 세포 또는 $CD8^+$ T 세포인, 면역반응성 세포.

청구항 63

제59항 내지 제62항 중 어느 한 항의 면역반응성 세포의 제조 방법으로서, 제56항의 폴리뉴클레오티드 또는 제58항의 벡터를 면역 세포에 형질주입 또는 형질도입시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 면역 세포를 적어도 48시간 동안 확장시키는 것을 포함하는 방법.

청구항 65

제64항에 있어서, 상기 면역 세포는 10의 감염 다중도로 형질도입되는, 방법.

청구항 66

제65항에 있어서, 형질 도입 후, 제58항의 벡터를 세척하는 것 및 상기 형질도입된 면역 세포를 적어도 14일 동안 확장시키는 것을 추가로 포함하는 방법.

청구항 67

대상체의 치료 방법으로서, 치료적 유효량의 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP, 제28항 내지 제30항 중 어느 한 항의 ABP-약물 접합체, 제32항의 약학적 조성물 또는 제59항 내지 제62항 중 어느 한 항의 면역반응성 세포를 투여하는 것을 포함하는 방법.

청구항 68

제67항에 있어서, 상기 대상체는 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는, 방법.

청구항 69

제67항에 있어서, 상기 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병인, 방법.

청구항 70

제59항 또는 제62항에 있어서, 상기 ABP, 상기 약학적 조성물 또는 상기 면역반응성 세포는 추가 작용제와 조합하여 투여되는, 방법.

청구항 71

제70항에 있어서, 상기 추가 작용제는 화학치료제 또는 생물학적 제제인, 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, 상기 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos[®])로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 73

제70항에 있어서, 상기 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제인, 방법.

청구항 74

제73항에 있어서, 상기 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제인, 방법.

청구항 75

제74항에 있어서, 상기 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데깁, 소니디깁 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택되는, 방법.

청구항 76

제73항에 있어서, 상기 헤지호그 경로 저해제는 글라스테깁(Daurismo[™])인, 방법.

청구항 77

제71항에 있어서, 상기 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제인, 방법.

청구항 78

제77항에 있어서, 상기 FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt[®]), 길테리티닙(Xospata[®]), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라닙로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 79

제73항에 있어서, 상기 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제인, 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 상기 IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시테닙(Tibsovo[®]) 또는 에나시테닙(IDhifa[®])인, 방법.

청구항 81

제73항에 있어서, 상기 추가 작용제는 B-세포림프종 2(BCL2) 저해제인, 방법.

청구항 82

제81항에 있어서, 상기 BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta[®])인, 방법.

청구항 83

제73항에 있어서, 상기 추가 작용제는 CD33-표적화제인, 방법.

청구항 84

제83항에 있어서, 상기 CD33-표적화제는 켐투주맵 오조가미신(Mylotarg[™]) 또는 바다스톡시맵 탈리린(SGN-CD33A)인, 방법.

청구항 85

제73항에 있어서, 상기 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제인, 방법.

청구항 86

제85항에 있어서, 상기 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라(Aurora) 키나제 저해제, 폴로(Polo)-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제인, 방법.

청구항 87

제73항에 있어서, 상기 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제인, 방법.

청구항 88

제73항에 있어서, 상기 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체인, 방법.

청구항 89

대상체에서 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)을 진단하는 방법으로서, 대상체의 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하며, 상기 종양-특이적 항원은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 90

제89항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플인, 방법.

청구항 91

제89항 또는 제90항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은 아세포를 포함하는, 방법.

청구항 92

제91항에 있어서, 상기 아세포는 골수성 아세포, 림프성 아세포, 또는 골수성 아세포와 림프성 아세포의 조합으로부터 선택되는, 방법.

청구항 93

제89항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출하는 단계는 상기 생물학적 샘플을, 상기 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합하는 표적 결합 단백질과 접촉시키는 것을 포함하는, 방법.

청구항 94

제93항에 있어서, 상기 표적 결합 단백질은 항체인, 방법.

청구항 95

제93항에 있어서, 상기 표적 결합 단백질은 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP인, 방법.

청구항 96

제89항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출하는 단계는 유세포 분석법, 면역세포화학, 면역조직화학, 형광 또는 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay)을 포함하는, 방법.

청구항 97

제93항 내지 제96항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적 결합 단백질은 표지되는 방법.

청구항 98

제97항에 있어서, 상기 표적 결합 단백질은 형광단 또는 효소로 표지되는 방법.

청구항 99

제89항 내지 제92항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 검출하는 단계는 상기 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함하는 방법.

청구항 100

제99항에 있어서, 상기 mRNA 수준은 인시츄 혼성화(in situ hybridization), 역전사-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR), 또는 서열분석에 의해 측정되는 방법.

청구항 101

제89항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 연령에서 발병하는 방법.

청구항 102

제89항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 대상체로부터의 상기 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준의 검출에 기초하여 상기 대상체에서 암 세포의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 103

제89항 내지 제101항 중 어느 한 항에 있어서,
CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합하는 치료제의 치료적 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 104

제103항에 있어서, 상기 치료제는 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포, 또는 이중특이적 T 세포 인게이지(BiTE)이며, 상기 ABP, ABP-약물 접합체, CAR 또는 BiTE는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합하는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서, 상기 치료제는 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항의 ABP, 제28항 내지 제30항 중 어느 한 항의 ABP-약물 접합체, 제31항의 BiTE, 제37항 내지 제55항 중 어느 한 항의 CAR, 또는 제59항 내지 제62항 중 어느 한 항의 면역반응성 세포인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 교차 참조

[0002] 본 출원은 2021년 4월 5일자로 출원된 미국 임시 출원 제63/170,976호의 이익을 주장하며, 이의 개시내용은 이의 전문이 참조에 의해 본원에 포함된다.

[0003] 서열목록

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출된 서열 목록을 포함하며, 이의 전문은 참조에 의해 본원에 포함된다. 2022년 4월 4일에 작성된 상기 ASCII 사본은 파일명이 48002US_CRF_sequencelisting.txt이고 크기가 128,977 바이트이다.

배경 기술

[0005] 급성 골수성 백혈병(AML: acute myeloid leukemia)은 골수에서 유래하는 혈액암이며 전체 소아 악성종양의 대략 1/3을 차지한다. AML은 소아에서 가장 많은 수의 암 관련 사망을 유발하며, 5년의 추적 관찰 동안 전체 생존율은 55 내지 70% 범위이다. 화학요법은 40년 넘게 표준 AML 치료법이었으며, 종종 암이 완화되는 원인이기는 하지만 암 세포를 완전히 제거하는 경우는 거의 없다. 이는 종종 질환 재발로 이어지며 결국 환자의 사망으로 이어지는데, 그 이유는 2차 요법이 제한적이기 때문이다. 현재, 첫 번째 관해에 도달한 환자 중 50% 넘게, 고용량 화학요법, 조혈 세포 이식과 같은 적극적인 관해 후 치료법을 채택하고 있다. 이러한 적극적인 관해 후 치료법을 견디기에 충분히 건강하지 않은 다수의 재발 환자에게는 이용 가능한 치료 옵션이 없다.

[0006] 따라서 AML의 대체 1차 치료법 및 관해 후 치료법을 개발하기 위한 광범위한 노력이 있었지만 눈에 띄는 성공은 없었다. AML 암 세포는 전사 인자 점유 및 전사 조절에 변화를 나타내며, AML 환자는 백혈병 연관 증상 및 예후 차이의 다양한 하위 유형을 갖는다. 백혈병의 특정 하위유형을 표적으로 하는 것이 보다 효과적인 맞춤형 요법을 가능하게 할 수 있다고 제안되어 있다. 그러나, 개별 환자의 백혈병 하위유형은 시간이 경과에 따라 또는 치료 결과로서 변화될 수 있고, 개별 환자는 여러 하위클론을 가질 수 있다.

[0007] AML 치료를 위한 면역요법 접근법에 대한 연구가 또한 존재한다. 인터루킨-3 수용체 α쇄(IL3RA, CD123으로도 알려져 있음)는 정상 골수에 비해 대다수의 AML 세포에서 과발현되기 때문에 AML 치료에 표적화된 최초의 항원 중 하나이다. CD123을 표적으로 하는 단클론성 항체 및 재조합 면역독소는 전임상 평가에서 가능성을 나타내었다. CD33은 AML 악성 세포의 80% 초과에서 발현되기 때문에 또 다른 관심 항원이지만; 이것은 정상적인 골수성 전구 세포주에서도 발현된다. 유망한 전임상 데이터를 기반으로, 이러한 두 표면 분자를 표적으로 하는, CAR-T 세포를 포함한 면역요법이 재발성 및 불응성 AML 환자의 초기 단계 임상 시험에서 시험되었다. 그러나 이들 접근법은 질환에 대한 장기적인 이점 없이 단기적인 반응만을 나타내었고 사용된 표적의 불량한 특이성으로 인해 심각한 부작용, 즉, 또한 조혈 줄기세포 및 전구 세포에 의한 해당 표적의 발현으로 인한 심각한 범혈구감소증 및 심각한 골수절제증을 유발하였기 때문에 예비임상 결과는 실망스러웠다.

[0008] 따라서 AML의 치료를 위한 안전하고 효과적인 대체 요법의 개발 필요성이 있다.

발명의 내용

[0009] 본 출원인은 인실리코 분석 및 그 이후의 실험 분석 및 검증을 사용하여 조혈 줄기세포 구획 내에서 거의 또는 전혀 발현되지 않으면서 AML 세포에 특이적인 6개의 신규한 항원(즉, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109)을 식별하였다. AML 세포주(SHI-1, HL-60, KASUMI-1, MOLM-13, MV4-1 및 AM)를 사용한 유세포 분석법(flow cytometry)에 의해서 결정된 바와 같이, AML 세포에서의 안정적이고 특이적이고 높은 수준의 발현에 부분적으로 기초하여 6개의 중앙-특이적 항원(TSA)을 선택하였다.

[0010] 이러한 발견에 기초하여, 본 출원인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로부터 선택된 TSA를 표적화함

으로써 골수성 장애 및 급성 백혈병(예를 들어, AML)을 진단 및 치료하는 방법을 제공한다. 치료 방법에 사용될 수 있는 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체 및 키메라 항원 수용체(CAR)가 본원에 추가로 제공된다.

- [0011] 따라서, 본 개시내용은 대상체에서 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)을 진단하는 방법을 제공하며, 이 방법은 대상체의 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서 종양-특이적 항원은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0012] 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플 또는 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 아세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아세포는 골수성 아세포, 림프성 아세포 또는 골수성 아세포와 림프성 아세포의 조합으로부터 선택된다.
- [0013] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플을 항체와 접촉시키는 것을 포함하고, 여기서 항체는 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 유세포 분석법, 면역세포화학, 면역조직화학, 형광 또는 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 항체는 표지된다. 일부 실시형태에서, 항체는 형광단 또는 효소로 표지된다. 일부 실시형태에서, 표적 결합 단백질은 표지된다. 일부 실시형태에서, 표적 결합 단백질은 형광단 또는 효소로 표지된다. 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다.
- [0014] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA 수준은 인시츄 혼성화(in situ hybridization), 역전사-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR), 또는 차세대 서열분석에 의해 측정된다.
- [0015] 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 연령에서 발병한다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터의 혈액 및/또는 골수 샘플 내의 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준의 검출에 기초하여 대상체에서 암 세포의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터의 생물학적 샘플 내의 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준의 검출에 기초하여 대상체에서 암 세포의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0016] 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합하는 치료제의 치료적 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0017] 일부 실시형태에서, 치료제는 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포, 또는 이중특이적 T 세포 인게이저(BiTE)이며, ABP, ABP-약물 접합체, CAR 또는 BiTE는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 치료제는 본 개시내용에 기재된 ABP, 본 개시내용에 기재된 ABP-약물 접합체, 본 개시내용에 기재된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포 또는 본 개시내용에 기재된 이중특이적 T-세포 인게이저(BiTE)이다.
- [0018] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 대상체의 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준을 검출하는 단계 - 여기서 종양-특이적 항원은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택됨 -; b) 대상체에게 치료적 유효량의 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, 또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포를 투여하는 단계 - 여기서 ABP, ABP-약물 접합체, 또는 CAR은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합함 -를 포함한다.
- [0019] 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 혈액 샘플, 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL) 아세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 아세포는 골수성 아세포, 림프성 아세포 또는 골수성 아세포와 림프성 아세포의 조합으로부터 선택된다.
- [0020] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준은 생물학적 샘플을 항체와 접촉시킴으로써 검출되고, 여기서 항체는 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준은 유세포 분석법, 면역세포화학, 면역조직화학, 형광 또는 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)에 의해서 검출된다.
- [0021] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준은 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정함으로써 검출된다. 일부 실시형태에서, mRNA 수준은 인시츄 혼성화, 역전사-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR),

또는 차세대 서열분석에 의해 측정된다.

- [0022] 일 양태에서, 본 개시내용은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하는, 항원 결합 단백질(ABP: antigen-binding protein)을 제공한다.
- [0023] 일부 실시형태에서, ABP는 인간 CD84에 특이적으로 결합한다.
- [0024] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 97, 서열번호 98, 또는 서열번호 90의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0025] 일부 실시형태에서, ABP는 다음을 포함한다:
- [0026] a. 서열번호 51의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 61의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3;
- [0027] b. 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3; 또는
- [0028] c. 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3.
- [0029] 일부 실시형태에서, ABP는 다음을 포함한다:
- [0030] d. 서열번호 80의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 88의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인;
- [0031] e. 서열번호 81의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 88의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인; 또는
- [0032] f. 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인.
- [0033] 일부 실시형태에서, ABP는 인간 CD69에 특이적으로 결합한다.
- [0034] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 89 내지 96으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0035] 일부 실시형태에서, ABP는 다음을 포함한다:
- [0036] 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 57의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 64의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3;
- [0037] 서열번호 50의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 60의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 69의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 73의 서열을 갖는 V_H CDR3;
- [0038] 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 65의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 70의 서열을 갖는 V_H

는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인.

- [0054] 일부 실시형태에서, ABP는 인간 CD69 및 CD84에 특이적으로 결합한다.
- [0055] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 36의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0056] 일부 실시형태에서, ABP는 다음을 포함한다:
- [0057] 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3.
- [0058] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 74의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인 및 서열번호 83의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 95%, 적어도 97% 또는 100% 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0059] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 89 내지 98로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0060] 일부 실시형태에서, ABP는 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, $(scFv)_2$, 단일 쇄 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인 항체, 선형 항체 또는 V 도메인 항체를 포함한다.
- [0061] 일부 실시형태에서, ABP는 Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, $(scFv)_2$, 단일 쇄 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인 항체, 선형 항체 또는 V 도메인 항체이다.
- [0062] 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성 항체이다.
- [0063] 일부 실시형태에서, ABP는 IgG, IgM, IgA, IgD 및 IgE 항체로부터 선택된다.
- [0064] 일부 실시형태에서, ABP는 클래스 IgG 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된 하위클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0065] 일부 실시형태에서, ABP는 약물에 접합된다.
- [0066] 일부 실시형태에서, ABP는 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유도할 수 있고, 여기서 ABP는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하고, ABP는 인간 Fc를 포함한다.
- [0067] 일부 실시형태에서, ABP는 인간, 인간화 또는 키메라 ABP이다.
- [0068] 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성이다.
- [0069] 일부 실시형태에서, ABP는 이중특이적 또는 다중특이적이다.
- [0070] 일부 실시형태에서, ABP는 IgG의 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0071] 일부 실시형태에서, ABP는 아푸코실화된다(afucosylated).
- [0072] 일부 실시형태에서, ABP는 표면 플라스몬 공명(SPR: surface plasmon resonance) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D 로 표적 단백질에 결합한다.
- [0073] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 ABP를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 세트를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 벡터의 세트를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 단리된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0074] 일 양태에서, 본 개시내용은 단리된 항원 결합 단백질(ABP)의 생산 방법을 제공하며, 이 방법은 본 개시내용에 개시된 바와 같은 숙주 세포에서 ABP를 발현시키는 것 및 ABP를 단리시키는 것을 포함한다.

- [0075] 일 양태에서, 본 개시내용은 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유도할 수 있는 항원-결합 단백질(ABP)을 제공하며, 여기서 ABP는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하고, ABP는 인간 Fc를 포함한다.
- [0076] 일부 실시형태에서, ABP는 인간, 인간화 또는 키메라 ABP이다. 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성이다. 일부 실시형태에서, ABP는 이중특이적 또는 다중특이적이다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG1의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 아푸코실화된다.
- [0077] 일부 실시형태에서, ABP는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D 로 표적 단백질에 결합한다.
- [0078] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 ABP 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0079] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 치료적 유효량의 본원에 제공된 ABP 또는 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병이다.
- [0080] 일부 실시형태에서, ABP 또는 약학적 조성물은 추가 작용제와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 화학치료제 또는 생물학적 제제이다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos®)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데깁, 소니디깁 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 글라스데깁(Daurismo™)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제이다. 일부 실시형태에서, FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt®), 길테리티닙(Xospata®), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라닙로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시데닙(Tibsovo®) 또는 에나시데닙(IDhifa®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 B-세포림프종 2(BCL2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 CD33-표적화제이다. 일부 실시형태에서, CD33-표적화제는 켐투주맙 오조가미신(Mylotarg™) 또는 바다스톡시맙 탈리린(SGN-CD33A)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라(Aurora) 키나제 저해제, 폴로(Polo)-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체이다.
- [0081] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 항원 결합 단백질(ABP), ABP에 연결된 세포독성제, 및 선택적으로 세포독성제를 ABP에 연결하는 링커를 포함하는 항원 결합 단백질(ABP)-약물 접합체를 제공하며, 여기서 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합한다.
- [0082] 일부 실시형태에서, ABP는 인간, 인간화 또는 키메라 ABP이다. 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성이다. 일부 실시형태에서, ABP는 이중특이적 또는 다중특이적이다. 일부 실시형태에서, ABP는 Fab, Fabⁿ, F(abⁿ)₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일 쇠 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인 항체, 선형 항체, V 도메인 항체, 또는 이중특이적 탠덤 2가 scFv, 또는 이중특이적 T-세포 인계이저(BiTE)를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 Fc, 선택적으로 인간 Fc를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG, IgA, IgD, IgE, 및 IgM으로부터 선택된 클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 클래스 IgG 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된 하위클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG1의 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0083] 특정 실시형태에서, ABP는 BiTE이다. 특정 실시형태에서, BiTE는 항원-결합 도메인 및 T-세포 활성화 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질/항원에 특이적으로 결합한다.

- [0084] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 표적 단백질(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109)에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0085] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 표적 항원 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0086] 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3ζ의 세포내 도메인을 포함한다. 특정 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3에 결합한다.
- [0087] 일부 실시형태에서, ABP는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D로 표적 단백질에 결합한다.
- [0088] 일부 실시형태에서, 세포독성제는 항혈관신생제(anti-angiogenic agent), 세포자멸사촉진제(pro-apoptotic agent), 항유사분열제(anti-mitotic agent), 항키나제 작용제(anti-kinase agent), 알킬화제, 호르몬, 호르몬 효능제(hormone agonist), 호르몬 길항제, 케모카인, 약물, 전구약물, 독소, 효소, 항대사물질, 항생제, 알칼로이드 또는 방사성 동위원소를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능한 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하지 않은 링커이다.
- [0089] 본 개시내용의 일 양태는 본 개시내용에 기재된 ABP-약물 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0090] 일 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 치료적 유효량의 본 개시내용에 기재된 ABP-약물 접합체 또는 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0091] 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병이다. 일부 실시형태에서, ABP-약물 접합체 또는 약학적 조성물은 추가 작용제와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 화학 치료제 또는 생물학적 제제이다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos®)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데깁, 소니디깁 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 글라스데깁(Daurismo™)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제이다. 일부 실시형태에서, FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt®), 길테리티닙(Xospata®), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라넵로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시데닙(Tibsovo®) 또는 예나시데닙(IDhifa®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 B-세포프롬종 2(BCL2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 CD33-표적화제이다. 일부 실시형태에서, CD33-표적화제는 켈투주맵 오조가미신(Mylotarg™) 또는 바다스톡시맵 탈리린(SGN-CD33A)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라 키나제 저해제, 플로-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체이다.
- [0092] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 세포의 항원-결합 도메인, 막관통 도메인, 신호전달 도메인, 및 선택적으로 공자극성 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공하며, 여기서 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질 또는 항원에 특이적으로 결합한다.
- [0093] 일부 실시형태에서, 세포의 항원-결합 도메인은 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0094] 일부 실시형태에서, 세포의 항원-결합 도메인은 본 개시내용에 기재된 ABP를 포함한다.

- [0095] 일부 실시형태에서, 신호전달 도메인은 CD3ζ의 세포내 도메인을 포함한다.
- [0096] 일부 실시형태에서, CAR은 공자극성 도메인을 추가로 포함하고, 여기서 공자극성 도메인은 CD28 공자극성 도메인, 4-1BB 공자극성 도메인, CD27 공자극성 도메인, OX40 공자극성 도메인, 또는 ICOS 공자극성 도메인이다.
- [0097] 일부 실시형태에서, 공자극성 도메인은 4-1BB 공자극성 도메인이다. 일부 실시형태에서, 4-1BB 공자극성 도메인은 서열번호 105의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0098] 일부 실시형태에서, 막관통 도메인은 CD28 막관통 도메인이다.
- [0099] 일부 실시형태에서, CD28 막관통 도메인은 서열번호 100의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0100] 일부 실시형태에서, CAR은 힌지 영역을 추가로 포함한다.
- [0101] 일부 실시형태에서, 힌지 영역은 CD28 폴리펩티드로부터 유래된 힌지 영역이다.
- [0102] 일부 실시형태에서, 힌지 영역은 서열번호 99의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0103] 일부 실시형태에서, 신호전달 도메인은 CD3제타 신호전달 도메인이다.
- [0104] 일부 실시형태에서, CD3제타 신호전달 도메인은 서열번호 101의 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0105] 일부 실시형태에서, CAR은 서열번호 35 내지 44로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0106] 일부 실시형태에서, 세포외 항원-결합 도메인은 인간 CD84에 특이적으로 결합한다.
- [0107] 일부 실시형태에서, 세포외 항원-결합 도메인은 인간 CD69에 특이적으로 결합한다.
- [0108] 일부 실시형태에서, CAR은 서열번호 35 내지 42로부터 선택된 아미노산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0109] 일부 실시형태에서, CAR은 서열번호 43, 44 또는 36의 아미노산과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0110] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0111] 일부 실시형태에서, CAR은 서열번호 24 내지 34의 뉴클레오티드 서열과 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0112] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 CAR 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0113] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 CAR을 발현하는 면역반응성 세포를 제공한다.
- [0114] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 CAR 폴리뉴클레오티드 또는 본 개시내용에 기재된 벡터를 포함하는 면역반응성 세포를 제공한다.
- [0115] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 αβ T 세포, γδ T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포이다.
- [0116] 일부 실시형태에서, αβ T 세포는 CD4⁺ T 세포 또는 CD8⁺ T 세포이다.
- [0117] 일 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 면역반응성 세포의 제조 방법을 제공하며, 이 방법은 본 개시내용에 기재된 CAR 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 면역 세포에 형질주입 또는 형질도입하는 것을 포함한다.
- [0118] 일부 실시형태에서, 방법은 면역 세포를 적어도 48시간 동안 확장시키는 것을 포함한다.
- [0119] 일부 실시형태에서, 면역 세포는 10의 감염 다중도로 형질도입된다.
- [0120] 일부 실시형태에서, 방법은 형질 도입 후 청구항 58의 벡터를 세척하는 것 및 형질도입된 면역 세포를 적어도 14일 동안 확장시키는 것을 추가로 포함한다.

- [0121] 일 양태에서, 본 개시내용은 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 치료적 유효량의 본 개시내용에 기재된 ABP, 본 개시내용에 기재된 ABP-약물 접합체, 본 개시내용에 기재된 약학적 조성물, 또는 본 개시내용에 기재된 면역반응성 세포를 투여하는 것을 포함한다.
- [0122] 일부 실시형태에서, 대상체는 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는다.
- [0123] 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병이다.
- [0124] 일부 실시형태에서, 세포외 항원-결합 도메인은 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 공자극성 도메인을 추가로 포함하고, 여기서 공자극성 도메인은 CD28 공자극성 도메인, 4-1BB 공자극성 도메인, CD27 공자극성 도메인, OX40 공자극성 도메인, 또는 ICOS 공자극성 도메인이다.
- [0125] 일 양태에서, 본 개시내용은 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다. 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용에 기재된 CAR을 발현하는 면역반응성 세포 및 폴리뉴클레오티드를 포함하는 면역반응성 세포를 제공한다.
- [0126] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 α β T 세포, γ δ T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포이다. 일부 실시형태에서, α β T 세포는 CD4⁺ T 세포, CD3⁺ T 세포, 또는 CD8⁺ T 세포이다.
- [0127] 일 양태에서, 본 개시내용은 면역반응성 세포의 제조 방법을 제공하며, 이 방법은 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 면역반응성 세포에 형질주입 또는 형질도입하는 것을 포함한다.
- [0128] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 치료적 유효량의 면역반응성 세포를 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병이다.
- [0129] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 추가 작용제와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 화학치료제 또는 생물학적 제제이다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos®)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데길, 소니디길 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 글라스테길(Daurismo™)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제이다. 일부 실시형태에서, FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt®), 길테리티닙(Xospata®), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라닙으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시데닙(Tibsovo®) 또는 에나시데닙(IDhifa®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 B-세포탐프종 2(BCL2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 CD33-표적화제이다. 일부 실시형태에서, CD33-표적화제는 켈투주맙 오조가미신(Mylotarg™) 또는 바다스투스맙 탈리린(SGN-CD33A)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라 키나제 저해제, 폴로-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체이다.
- [0130] 일 양태에서, 본 개시내용은 항원-결합 도메인 및 T-세포 활성화 도메인을 포함하는 이중특이적 T-세포 인게이저(BiTE)를 제공하며, 여기서 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질/항원에 특이적으로 결합한다.
- [0131] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0132] 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3 ζ의 세포내 도메인을 포함한다.
- [0133] 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFV)을 포함한다.

- [0134] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 BiTE를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 BiTE를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0135] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공하며, 이 방법은 치료적 유효량의 BiTE를 투여하는 것을 포함한다.
- [0136] 일부 실시형태에서, 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL)은 소아 또는 성인 발병이다.
- [0137] 일부 실시형태에서, BiTE 또는 벡터는 추가 작용제와 조합하여 투여된다.
- [0138] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 화학치료제 또는 생물학적 제제이다. 일부 실시형태에서, 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos®)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데길, 소니디길 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 글라스데길(Daurismo™)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제이다. 일부 실시형태에서, FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt®), 길테리티닙(Xospata®), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라닙로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시데닙(Tibsovo®) 또는 에나시데닙(IDhifa®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 B-세포 표면프종 2(BCL2) 저해제이다. 일부 실시형태에서, BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta®)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 CD33-표적화제이다. 일부 실시형태에서, CD33-표적화제는 쟈투주맙 오조가미신(Mylotarg™) 또는 바다스투시맙 탈리린(SGN-CD33A)이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라(Aurora) 키나제 저해제, 폴로(Polo)-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제이다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체이다.

도면의 간단한 설명

[0139] 본 개시내용의 이들 및 다른 특징, 양태 및 이점은 다음의 설명 및 첨부 도면으로 더 잘 이해될 것이다:

도 1은 실시예 1에 기재된 신규한 AML TSA를 식별하는 과정을 설명하는 흐름도이다. 스크리닝 흐름도는 AML 세포주(SHI-1, HL-60 MOLM-13, MV4;11 및 Kasumi-1)뿐만 아니라 건강한 대조군 조혈 세포(CD3⁺, CD19⁺ 및 CD33⁺ 하위집단 및 체대혈로부터 단리된 CD34⁺ 세포에 대해서 분류된 PBMC)에서 유세포 분석법 발현 분석을 진행한 26/76개 유전자를 정의한 특정 포함 및 제외 기준에 기초한 우선순위와 함께 진단 시 AML 유전자 발현 데이터로부터 선택된 유전자의 원래의 2개 목록을 나타낸다. AML 세포 표면에서 가장 좋은 후보 TSA 위치를 면역형광법으로 확인하였다.

도 2a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD69(밝은 회색 히스토그램) 대 이소형(어두운 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터(Cytometric analysis data)는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. 이소형 대조군은 1차 항체와 유사한 특성을 유지하지만 특정 표적 결합이 부족한 항체이다. **도 2b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD69의 공동-국제화)과 함께 CD69에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(SHI-1)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다. **도 2c**는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD69 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 3a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD63(밝은 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. **도 3b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD63의 공동-국제화)과 함께 CD63에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(HL-60)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다.

도 3c는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD63 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 4a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD151(밝은 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. **도 4b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD151의 공동-국재화)과 함께 CD151에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(HL-60)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다. **도 4c**는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD151 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 5a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD84(밝은 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. **도 5b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD84의 공동-국재화)과 함께 CD84에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(HL-60)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다. **도 5c**는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD84 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 6a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD109(밝은 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. **도 6b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD109의 공동-국재화)과 함께 CD109에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(Kasumi-1 또는 HL-60)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다. **도 6c**는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD109 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 7a는 몇몇 AML 세포주(HL-60, SHI-1, KASUM-1, MOLM-13 및 MV4-11)에서 CD72(밝은 회색 히스토그램)에 대해서 2개의 상이한 항체로 수행된 유세포 분석 데이터를 나타낸다. 이소형에 대한 세포 분석 데이터는 대조군(진한 회색 히스토그램)으로 제공된다. **도 7b**는 막 염색(Membrite: 원형질막 특이적 염료와 CD72의 공동-국재화)과 함께 CD72에 대한 2개의 항체(흰색 도트)를 사용한 AML 세포주(SHI-1)의 형광 면역조직화학 영상을 나타낸다. **도 7c**는 건강한 조혈 세포, 즉 PBMC로부터 유래된 건강한 CD3, CD19 및 CD33 하위집단 및 체대혈로부터 유래된 CD34 양성 세포에서 CD72 항체를 사용하여 수행된 분석으로부터 얻은 유세포 분석 데이터를 나타낸다.

도 8은 TSA의 특이성을 시험하기 위한 인간 1차 피부 섬유아세포에 대한 유세포 분석법 결과를 나타낸다.

도 9는 TSA의 특이성을 시험하기 위한 다양한 암 세포주에 대한 유세포 분석법 결과를 나타낸다. TSA 발현 수준을 유세포 분석법에 의해서 다양한 암 유형의 세포주에서 평가하였고, 이소형 대조군(회색)에 대해서 히스토그램(밝은 회색)으로 나타낸다.

도 10은 상이한 상업용 항체를 사용한 AML 세포주에 대한 유세포 분석법 결과를 나타낸다.

도 11은 진단 시 및 요법 후 관해 시에 수집된 AML 샘플에서의 TSA mRNA 발현을 나타낸다. TSA mRNA 발현을 진단 시(RQ=1) 및 요법 후 관해 시에 수집된 14쌍의 소아 AML 골수 샘플에서 정량적 PCR에 의해 평가하였다(도트들은 진단과 관련하여 관해 시의 mRNA 발현 값을 나타냄). 환자를 AML 유전적 위험도(SR= 표준 위험도, HR= 고 위험도)에 따라 계층화한다. TSA mRNA 발현은 불균일하지만, 요법 후 CD69, CD63 및 CD84 mRNA 발현의 유의한(*는 p<0.05를 나타냄) 감소가 검출되었다(RQ<1).

도 12a 및 도 12b는 병원에서의 유세포 분석법에 의한 TSA 발현을 나타낸다. **도 12a**는 CD34⁺CD38⁻ 하위집단에서 CD69 및 CD84 발현의 결여를 나타낸다. **도 12b**는 진단 시 AML 샘플에서의 TSA 발현을 도시하는데, 이는 AML 아세포에서 CD69 및 CD84의 최고 발현을 나타낸다.

도 13. CD69 및 CD84에 대한 신규한 AML CAR 선택 및 작제 파이프라인. 10개의 ScFv 서열을 파지 디스플레이로부터 선택하고, 발현을 위한 3세대 렌티바이러스 전달 플라스미드의 CAR 카세트에 클로닝하기 위한 특이성을 기준으로 우선순위를 지정하였다.

도 14. CAR-T 세포 제조 작업흐름. 렌티바이러스 형질도입 과정 및 CAR-T 세포 제조의 도식적 표현. 작업흐름은 제1 일에 공여자 T 세포의 단리, TransAct에 의한 효율적인 활성화, 제3 일에 CAR-LV 작제물의 유전자 전달을 포함한다. 제4 일부터 CAR-T 세포(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3으로 생성됨)를 IL-7 및 IL-15가 보충된 TexMACS 배지에서 14일 동안 확장시켰다. 제17 일에 CAR-T 세포를 면역표현형분

석하였고, HL-60 또는 SHI-1(CD84⁺ CD69⁺) AML 세포주와 공배양하여 성장시켰다.

도 15. 백터 카피 수(VCN, 세포당 통합된 바이러스 카피 수)를 측정하여 제17 일에 형질도입 효율을 결정하였다. VCN은 수행된 모든 실험에 대해 모든 CAR-T 세포 작제물에 대한 렌티바이러스 골격 내의 프라이머를 사용한 디지털 액적 PCR(ddPCR) 분석에 의해 결정하였다. 각각의 기호는 상이한 CAR 작제물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈(empty) CAR])을 나타낸다.

도 16. 제시된 AML 세포주 및 이소형 대조군(어두운 회색 피크)에 대한 CD69 및 CD84의 유세포 분석법 세포 표면 발현. 3개의 독립적인 실험의 대표적인 히스토그램.

도 17. CAR-T 세포 제조 동안 T 세포의 대표적인 배수 확장 동역학(제0 일에서 제14 일까지). 모의 형질도입된(빈 CAR) 및 T 세포를 모니터링하고, 세포 수를 유세포 분석법으로 계산하였다. 데이터는 평균±SEM(n=2 내지 7, P>0.05)으로 표시된다. 각각의 기호는 상이한 CAR 작제물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다.

도 18a 및 도 18b. 제조 종료 시점(제14 일)에 림프구 내 생존 가능한 T 림프구의 빈도(도 18a) 및 CD4⁺ 및 CD8⁺ 세포의 백분율(도 18b)을 유세포 분석법으로 측정하였다. 막대 및 기호는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다. 데이터는 2 내지 5개의 상이한 실험의 평균±SEM으로 표시된다.

도 19a 및 도 19b. 제1 일부터 CAR-T 세포 제조 종료(제14 일)까지의 대표적인 유세포 분석법 플롯(도 19a) 및 T 세포 하위세트의 빈도(도 19b). 면역표현형을 유세포 분석법에 의해 결정하였다: 나이브(T_n) 및 줄기세포 기억(T_{scm}), CD197(CCR7)⁺CD45RO⁻; 중추 기억(T_{cm}), CD197(CCR7)⁺CD45RO⁺; 최종 분화(T_{ef}), CD197(CCR7)⁻CD45RO⁻; 후기 기억(T_{em}) 및 이행 기억(T_{im}), CD197(CCR7)⁻CD45RO⁺. 막대는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다.

도 20a 및 도 20b. 제시된 마커의 발현에 의한 활성화(도 20a) 및 고갈(도 20b)을 평가하기 위한 CAR-T 세포의 면역표현형을 제1 일 및 제17 일에 유세포 분석법으로 결정하였다. 데이터는 1 내지 4개의 상이한 실험의 평균±SEM을 나타낸다. 막대는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다.

도 21. CD84(F12, B8) CAR 및 CD69(G1, H3) CAR을 발현하도록 조작된 T 세포는 표적 AML 세포주를 인식하고 사멸시킨다. 표적 HL-60 및 SHI-1(CD84⁺ CD69⁺) AML 세포주를 TexMACS 배지(--) 또는 효과기 CAR-T 세포와 1:1의 E:T 비율로 48시간 동안 공배양하여 성장시켰다. 7AAD 및 Annexin-V로 염색된 표적 AML 세포주(CD33⁺로 모니터링됨)를 유세포 분석법으로 분석하였다. SHI-1 및 HL-60 세포주는 모의 형질도입 세포(빈 CAR)를 사용한 경우보다 CAR-T 세포와 공배양한 경우 세포 사멸 비율이 더 높았다(빈 CAR 대비 *P<0.05, **P<0.01). 막대는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 빈 CAR)을 나타낸다. 데이터는 1 내지 4개의 상이한 실험의 평균±SEM으로 표시된다.

도 22. 각각의 막대는 표적 AML 세포주에 대해 상이한 CAR-T 생성물에 의해 발휘되는 사멸 백분율(용해 효력%)을 나타낸다. 막대는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다. 데이터는 1 내지 3개의 상이한 실험의 평균±SEM으로 표시된다(빈 CAR 대비 *P<0.05). CAR-T 세포 용해 효력을 다음과 같이 계산한다:

$$\text{용해}\% = 100 - \frac{\text{CAR T 세포와의 공배양물에서 살아있는 AML 세포의 } N}{\text{단독으로 배양된 살아있는 AML 세포의 } N} * 100$$

도 23. CAR-T 세포 용해 백분율을 루시퍼라제(LUC)-형질도입된 표적 AML 세포주에서 생물발광(BLI)으로 측정하였다. 각각의 막대는 단독으로 배양된 상대 AML 세포주의 BLI 값에 대해 표준화된 AML-LUC 세포주에서 상이한 CAR-T 생성물에 의해 발휘되는 사멸 백분율을 나타낸다. 막대는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR])을 나타낸다. 데이터는 2개의 상이한 실험의 평균±SEM으로 표시된다(빈 CAR 대비 **P<0.001; ****P<0.0001).

도 24. 48시간 동안 1:1의 효과기:표적(E:T) 비율로 단독(-) 또는 표적 AML 세포주와 함께 배양된 살아있는 CAR-T 세포의 절대 수, 유세포 분석법으로 정량화됨. 데이터는 효과기 세포의 지속성 및 표적 AML 세포의 용해를 나타낸다. 점선은 공배양 17일 전의 CAR-T 세포를 나타낸다. 각각의 기호는 상이한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR]) 및 세포주를 나타낸다.

도 25a 및 도 25b. 단독으로(---) 또는 1:1의 E:T 비율로 CAR-T 세포와 함께 6시간 동안 배양되고, 그 다음 14일 동안 MethoCult에 플레이팅된 CD34⁺ 세포로부터 생성된 콜로니 형성 단위(CFU)의 (도 25a) 대표적인 영상 및 (도 25b) 절대 수. 막대 및 기호는 다양한 CAR-T 세포 생성물(CD84의 경우 ScFv 서열 B8 또는 F12 및 CD69의 경우 G1 또는 H3로 생성됨, 모의 형질도입[빈 CAR]) 및 인간 CD34⁺ 세포를 나타낸다. 데이터는 2 내지 3개의 상이한 실험의 평균±SEM으로 표시된다(n.s. p>0.05 유의하지 않음).

도 26a 및 도 26b. 백혈병 무린(murine) 이종이식편에서 관찰된 루시페라제 생물발광 신호를 도 26a에 제공한다. 이것은 백혈병성 무린 이종이식편에서 CD69+ AML 세포주 성장에 대한 CD69(H3) CAR-T 세포 효과를 나타낸다. 도 26b는 루시페라제 신호 감소(총 플럭스로 표시됨)로 표시되는 CAR-T 세포에 의한 상응하는 AML 세포주의 생체내 용해 효력을 제공한다(모의 형질도입된 세포[빈 CAR] 대비 *P<0.05). 도 26c는 CD69+CD84+ AML 세포주에 대한 CD69(H3 및 G1) 및 CD84(B8 및 F12) CAR-T 세포의 생체내 용해 효력을 나타낸다(*빈 CAR 대비 P<0.05). NSG 마우스에게 0.5x10⁶개의 SHI-1-LUC 세포를 주사하고, 2일 후에 1.5x10⁶개의 CAR-T(1:3 비율, n= 7 마리 동물/군)을 주사하였다. 데이터는 평균±SEM으로 표시된다. AML 생착 및 확산을 루시페라제 생물발광에 의해 매주 모니터링하였다.

도 27은 CAR-T 작제물의 뉴클레오티드 서열(서열번호 24 내지34) 및 CAR-T 작제물의 단백질 서열(서열번호 35 내지 44 및 36)을 각각 출현 순서대로 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0140]

3.1. 정의

[0141]

본 명세서에서 다르게 정의되지 않는 한, 본 개시내용과 관련하여 사용되는 과학 및 기술 용어는 당업자가 일반적으로 이해하는 의미를 가져야 한다. 또한, 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함하고, 복수 용어는 단수를 포함해야 한다. 일반적으로, 본 명세서에 기재된 세포 및 조직 배양, 분자 생물학, 면역학, 미생물학, 유전학 및 단백질, 핵산 화학 및 혼성화와 관련하여 사용된 명명법 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고 일반적으로 사용되는 것이다. 본 개시내용의 방법 및 기술은 일반적으로 당업계에 잘 알려져 있는 통상적인 방법에 따라 수행되고, 달리 명시되지 않는 한 본 명세서 전반에 걸쳐 인용되고 논의되는 다양한 일반적이고 보다 구체적인 참고문헌에 기술된 바와 같이 수행된다. 효소 반응 및 정제 기술은 당업계에서 일반적으로 수행되거나 본원에 기재된 바와 같이 제조업체의 사양에 따라 수행된다. 본 명세서에 기재된 분석 화학, 합성 유기 화학, 의약 및 약학 화학과 관련하여 사용된 용어, 이들의 실험실 절차 및 기술은 당업계에 잘 알려져 있고 일반적으로 사용되는 것이다. 표준 기술은 화학 합성, 화학 분석, 약품 제조, 제형, 전달, 환자 치료에 사용될 수 있다.

[0142]

다음 용어는 달리 명시되지 않는 한 다음과 같은 의미를 갖는 것으로 이해되어야 한다.

[0143]

비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD63", "CD63 단백질" 및 "CD63 항원"은 인간 CD63 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD63 유전자(NCBI 수탁 번호: NG_008347, 유전자 ID 967)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD63의 이소형(ISOTYPE) 또는 종 오쏘로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0144]

비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD151", "CD151 단백질" 및 "CD151 항원"은 인간 CD151 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD151 유전자(NCBI 수탁 번호: 007478.1, 유전자 ID 977)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD151의 이소형 또는 종 오쏘로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0145]

비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD72", "CD72 단백질" 및 "CD72 항원"은 인간 CD72 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD72 유전자(NCBI 수탁 번호: 000009.12, 유전자 ID 971)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD72의

이소형 또는 중 오소로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

- [0146] 비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD84", "CD84 단백질" 및 "CD84 항원"은 인간 CD84 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD84 유전자(NCBI 수탁 번호: 000001.11, 유전자 ID 8832)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD84의 이소형 또는 중 오소로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0147] 비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD69", "CD69 단백질" 및 "CD69 항원"은 인간 CD69 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD69 유전자(NCBI 수탁 번호: 000012.12, 유전자 ID 969)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD69의 이소형 또는 중 오소로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0148] 비인간 종의 명칭에 의해 추가로 수식되지 않는 한, 용어 "CD109", "CD109 단백질" 및 "CD109 항원"은 인간 CD69 또는 임의의 변이체(예를 들어, 스플라이스 변이체), 신생물 세포를 포함하는 세포에 의해 자연적으로 발현되거나 CD109 유전자(NCBI 수탁 번호: NC_000006.12, 유전자 ID 135228)가 형질주입된 세포에 의해 발현되는 인간 CD109의 이소형 또는 중 오소로그를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환적으로 사용된다.
- [0149] 용어 "항원-결합 단백질" (ABP)은 항원 또는 에피토프에 특이적으로 결합하는 1개 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 단백질을 지칭한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 자연 발생 항체의 것과 유사한 특이성 및 친화도로 항원 또는 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체로 이루어진다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, ABP는 대체 스캐폴드를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 대체 스캐폴드로 이루어진다. 일부 실시형태에서, ABP는 대체 스캐폴드로 본질적으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체 단편으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체 단편으로 본질적으로 이루어진다. 예를 들어, "CD63", "항- CD63 ABP", 또는 "CD63-특이적 ABP"는 항원 CD63에 특이적으로 결합하는 본원에 제공된 바와 같은 ABP이다. 일부 실시형태에서, ABP는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109의 세포외 도메인에 결합한다. 특정 실시형태에서, 본원에 제공된 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP는 각각 상이한 종으로부터의 CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 단백질 사이에서 또는 이들 중에서 보존된 CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109의 에피토프에 결합한다.
- [0150] 용어 "항체"는 본원에서 그의 가장 넓은 의미로 사용되며, 항원 또는 에피토프에 특이적으로 결합하는 1개 이상의 항원-결합 도메인을 포함하는 특정 유형의 면역글로불린 분자를 포함한다. 항체는 구체적으로 무손상 항체(예를 들어, 무손상 면역글로불린), 항체 단편, 및 다중특이적 항체를 포함한다. 항원-결합 도메인의 일례는 V_H - V_L 이량체에 의해서 형성된 항원-결합 도메인이다. 항체는 ABP의 하나의 유형이다.
- [0151] 용어 "항원-결합 도메인"은 항원 또는 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는 ABP의 부분을 의미한다.
- [0152] 용어 "전장 항체", "무손상 항체", 및 "전체 항체"는 자연 발생 항체 구조와 실질적으로 유사한 구조를 가지며, Fc 영역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 지칭하기 위해 본원에서 상호교환가능하게 사용된다.
- [0153] 용어 "Fc 영역"은 자연 발생 항체에서 Fc 수용체 및 보체계의 특정 단백질과 상호작용하는 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 의미한다. 다양한 면역글로불린의 Fc 영역의 구조, 및 이에 함유된 글리코실화 부위는 당업계에 알려져 있다. 전문이 참조에 의해 포함된 문헌[Schroeder and Cavacini, J. Allergy Clin. Immunol., 2010, 125:S41-52]을 참조하기 바란다. Fc 영역은 자연 발생 Fc 영역 본 개시내용의 다른 곳에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역일 수 있다.
- [0154] "항체 단편"은 무손상 항체의 부분, 예컨대, 무손상 항체의 항원-결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편은 예를 들어, Fv 단편, Fab 단편, F(ab')₂ 단편, Fab' 단편, scFv (sFv) 단편, 및 scFv-Fc 단편을 포함한다.
- [0155] "Fv" 단편은 1개의 중쇄 가변 도메인 및 1개의 경쇄 가변 도메인의 비-공유적으로-연결된 이량체를 포함한다.
- [0156] "Fab" 단편은 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 외에도, 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH₁)을 포함한다. Fab 단편은 예를 들어, 재조합 방법에 의해 또는 전장 항체의 파파인 소화에 의해 생성될 수 있다.
- [0157] "F(ab')₂" 단편은 힌지 영역 부근에 이황화 결합에 의해 연결된 2개의 Fab' 단편을 함유한다. F(ab')₂ 단편은 예를 들어, 재조합 방법에 의해 또는 무손상 항체의 펩신 소화에 의해 생성될 수 있다. F(ab') 단편은 예를 들어, β-메르캅토에탄올로의 처리에 의해 해리될 수 있다.

- [0158] "단일-쇄 Fv" 또는 "sFv" 또는 "scFv" 항체 단편은 단일 폴리펩티드 쇠에 V_H 도메인 및 V_L 도메인을 포함한다. V_H 및 V_L은 일반적으로 펩티드 링커에 의해 연결된다. 문헌[Pluckthun A. (1994)]을 참조하기 바란다. 일부 실시형태에서, 링커는 (GGGS)_n(서열번호 1)이다. 일부 실시형태에서, n = 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. 전문이 참조에 의해 포함된 문헌[Antibodies from Escherichia coli. In Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), The Pharmacology of Monoclonal Antibodies vol. 113 (pp. 269-315). Springer-Verlag, New York]을 참조하기 바란다.
- [0159] "scFv-Fc" 단편은 Fc 도메인에 부착된 scFv를 포함한다. 예를 들어, Fc 도메인은 scFv의 C-말단에 부착될 수 있다. Fc 도메인은 scFv에서의 가변 도메인의 배향(즉, V_H-V_L 또는 V_L-V_H)에 따라 V_H 또는 V_L을 따를 수 있다. 당업계에 알려지거나 본원에 기재된 임의의 적합한 Fc 도메인이 사용될 수 있다. 일부의 경우, Fc 도메인은 IgG4 Fc 도메인을 포함한다.
- [0160] 용어 "단일 도메인 항체"는 항체의 하나의 가변 도메인이 다른 가변 도메인의 존재 없이 항원에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다.
- [0161] "단일특이적 ABP"는 단일 에피토프에 특이적으로 결합하는 결합을 포함하는 ABP이다. 단일특이적 ABP의 예는 2 가이면서 각각의 항원-결합 도메인에서 동일한 에피토프를 인식하는 자연 발생 IgG 분자이다. 결합 특이성은 임의의 적합한 결합가로 존재할 수 있다.
- [0162] 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터의 항체를 지칭한다. 실질적으로 균일한 항체의 집단은 단클론성 항체의 생산 동안 정상적으로 발생할 수 있는 변이체를 제외하고는, 실질적으로 유사하고, 동일한 에피토프(들)에 결합하는 항체를 포함한다. 이러한 변이체는 일반적으로 단지 소량으로 존재한다. 단클론성 항체는 전형적으로 복수의 항체로부터의 단일 항체의 선택을 포함하는 공정에 의해 얻어진다. 예를 들어, 선택 공정은 복수의 클론, 예컨대, 하이브리도마 클론, 파지 클론, 효모 클론, 박테리아 클론, 또는 다른 재조합 DNA 클론의 풀로부터의 고유한 클론의 선택일 수 있다. 선택된 항체는 예를 들어, 표적에 대한 친화도를 개선시키도록 ("친화도 성숙"), 항체를 인간화하도록, 세포 배양에서의 그의 생산을 개선시키도록, 그리고/또는 대상체에서의 그의 면역원성을 감소시키도록 추가로 변경될 수 있다.
- [0163] 용어 "키메라 항체"는 중쇄 및/또는 경쇄의 부분이 특정 공급원 또는 종으로부터 유래된 반면, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지는 상이한 공급원 또는 종으로부터 유래된 항체를 지칭한다.
- [0164] 비-인간 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 항체로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 인간화 항체는 일반적으로 1개 이상의 CDR로부터의 잔기가 비-인간 항체(공여자 항체)의 1개 이상의 CDR로부터의 잔기에 의해 대체된 인간 항체(수용자 항체)이다. 공여자 항체는 바람직한 특이성, 친화도, 또는 생물학적 효과를 갖는 임의의 적합한 비-인간 항체, 예컨대, 마우스, 래트, 토끼, 닭, 또는 비-인간 영장류 항체일 수 있다. 일부 예에서, 수용자 항체의 선택된 프레임워크 영역 잔기는 공여자 항체로부터의 상응하는 프레임워크 영역 잔기에 의해 대체된다. 인간화 항체는 또한 수용자 항체 또는 공여자 항체 중 어디에서도 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이러한 변형은 항체 기능을 추가로 개량하도록 이루어질 수 있다.
- [0165] "인간 항체"는 인간 또는 인간 세포에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 보유하거나, 인간 항체 레퍼토리 또는 인간 항체-암호화 서열을 이용하는 비-인간 공급원으로부터 유래된(예를 들어, 인간 공급원으로부터 얻어지거나, 데 노보 설계된) 것이다. 인간 항체는 구체적으로 인간화 항체를 배제한다.
- [0166] "단리된 ABP" 또는 "단리된 핵산"은 이의 자연 환경의 성분으로부터 분리되고/거나 회수된 ABP 또는 핵산이다. 자연 환경의 성분은 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 물질을 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP는 예를 들어 스피닝 컵 서열분석기의 사용에 의해 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻는 데 충분한 정도로 정제된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP는 쿠마시(Coomassie) 블루 또는 은 염색에 의한 검출로, 환원 또는 비환원 조건 하에서 겔 전기영동(예를 들어, SDS-PAGE)에 의해 균질성까지 정제된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP는 ABP의 자연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않기 때문에, 재조합 세포 내의 동일계의 ABP를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP 또는 단리된 핵산은 적어도 하나의 정제 단계에 의해 제조된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP 또는 단리된 핵산은 적어도 80 중량%, 85 중량%, 90 중량%, 95 중량%, 또는 99 중량%까지 정제된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP 또는 단리된 핵산은 적어도 80 부피%, 85 부피%, 90 부피%, 95 부피%, 또는 99 부피%까지 정제된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP 또는 단리된 핵산은 적어도 85 중량%, 90 중량%, 95 중량%, 98 중량%, 99 중량% 내지 100 중량%의 ABP 또는 핵

산을 포함하는 용액으로서 제공된다. 일부 실시형태에서, 단리된 ABP 또는 단리된 핵산은 적어도 85 부피%, 90 부피%, 95 부피%, 98 부피%, 99 부피% 내지 100 부피%의 ABP 또는 핵산을 포함하는 용액으로서 제공된다.

[0167] "친화도"는 분자 (예를 들어, ABP) 및 그의 결합 상대(예를 들어, 항원 또는 에피토프)의 단일 결합 부위 사이의 비-공유 상호작용의 총 합의 강도를 지칭한다. 달리 지시되지 않는 한, 본원에 사용된, "친화도"는 결합 쌍의 구성원들(예를 들어, ABP와 항원 또는 에피토프) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 내재적 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 이의 상대 Y에 대한 친화도는 해리 평형 상수(K_D)에 의해 표현될 수 있다. 해리 평형 상수에 기여하는 동역학 성분은 하기에 보다 상세하게 기재된다. 친화도는 본원에 기재된 것을 비롯하여 당업계에 알려진 일반적인 방법에 의해서 측정될 수 있다. 친화도는 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명(SPR) 기술(예를 들어, BIACORE®) 또는 생물층 간섭측정(예를 들어, FORTEBIO®) 또는 단클론성 경쟁적 ELISA 시험에 의해 측정될 수 있다.

[0168] 표적 분자에 대한 ABP의 결합과 관련하여, 용어 특정 항원(예를 들어, 폴리펩티드 표적) 또는 특정 항원 상의 에피토프에 "결합하다", "특이적 결합", "특이적으로 결합하다", "특이적인", "선택적으로 결합하다", 및 "선택적인"은 비-특이적 또는 비-선택적 상호작용과는 (예를 들어, 비-표적 분자와는) 측정가능하게 상이한 결합을 의미한다. 특이적 결합은 예를 들어, 표적 분자에의 결합을 측정하고, 이를 비-표적 분자에 대한 결합과 비교함으로써 측정될 수 있다. 특이적 결합은 또한 표적 분자 상에 인식된 에피토프를 모방하는 대조군 분자와의 경쟁에 의해 측정될 수 있다. 그 경우, 특이적 결합은 표적 분자에의 ABP의 결합이 대조군 분자에 의해 경쟁적으로 저해되는 경우 제시된다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 50% 미만이다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 40% 미만이다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 30% 미만이다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 20% 미만이다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 10% 미만이다. 일부 실시형태에서, 비-표적 분자에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 친화도는 각각 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 친화도의 약 0.1% 미만이다.

[0169] 본원에서 사용되는, 용어 " k_d "(sec^{-1})는 특정 ABP-항원 상호작용의 해리 속도 상수를 지칭한다. 이 값은 또한 koff 값으로 지칭된다.

[0170] 본원에서 사용되는, 용어 " k_a "($M^{-1} \times \text{sec}^{-1}$)는 특정 ABP-항원 상호작용의 회합 속도 상수를 지칭한다. 이 값은 또한 kon 값으로 지칭된다.

[0171] 본원에서 사용되는, 용어 " K_D "(M)는 특정 ABP-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭한다. $K_D = k_d/k_a$.

[0172] 본원에서 사용되는, 용어 " K_A "(M^{-1})는 특정 ABP-항원 상호작용의 회합 평형 상수를 지칭한다. $K_A = k_a/k_d$.

[0173] "친화도 성숙된" ABP는 변경(들)을 보유하지 않는 모 ABP에 비해 이의 항원에 대한 ABP의 친화도의 개선을 발생시키는, 1개 이상의 변경(예를 들어, 1개 이상의 CDR 또는 FR에서)을 갖는 ABP이다. 일 실시형태에서, 친화도 성숙된 ABP는 표적 항원에 대해 나노몰 또는 피코몰 친화도를 갖는다. 친화도 성숙된 ABP는 당업계에 알려진 다양한 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 막스(Marks) 등(문헌[Bio/Technology, 1992], 10:779-783, 이의 전문이 참조에 의해 포함됨)은 VH 및 VL 도메인 셔플링에 의한 친화도 성숙을 기재한다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 예를 들어, 문헌[Barbas et al. (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 1994, 91:3809-3813)]; 문헌[Schier et al., Gene, 1995, 169:147-155]; 문헌[Yelton et al., J. Immunol., 1995, 155:1994-2004]; 문헌[Jackson et al., J. Immunol., 1995, 154:3310-3319]; 및 문헌[Hawkins et al, J. Mol. Biol., 1992, 226:889-896]에 의해 기재되어 있으며; 이들의 각각은 그 전문이 참조에 의해 포함된다.

[0174] "면역접합체"는 1개 이상의 이종 분자(들)에 접합된 ABP이다.

[0175] "효과기 기능"은 활성이 항체 이소형에 따라 다양할 수 있는, 항체의 Fc 영역에 의해 매개되는 생물학적 활성을

지칭한다. 항체 효과기 기능의 예는 보체 의존적 세포독성(CDC)을 활성화시키는 C1q 결합, 항체-의존적 세포독성(ADCC), 및 항체 의존적 세포성 포식작용(ADCP)을 활성화시키는 Fc 수용체 결합을 포함한다.

[0176] 2개 이상의 ABP의 맥락에서 본원에 사용되는 경우, 용어 "과 경쟁하다" 또는 "과 교차-경쟁하다"는 2개 이상의 ABP가 항원(예를 들어, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109)에 대한 결합에 대해 경쟁하는 것을 나타낸다. 하나의 예시적인 검정에서, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 표면 상에 코팅하고, 각각 제 1 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP와 접촉시키고, 그 후, 제2 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP를 첨가한다. 또 다른 예시적인 검정에서, 제1 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP를 표면 상에 코팅하고, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109와 접촉시킨 후, 제2 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP를 첨가한다. 모든 검정에서 제1 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 존재가 제2 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 ABP의 결합을 감소시키는 경우, ABP는 경쟁한다. 용어 "과 경쟁하다"는 또한 한 ABP가 또 다른 ABP의 결합을 감소시키지만, ABP가 역순으로 첨가되는 경우 경쟁이 관찰되지 않는 ABP의 조합을 포함한다. 그러나, 일부 실시형태에서, 제1 및 제2 ABP는 이들이 첨가되는 순서와 무관하게 서로의 결합을 저해한다. 일부 실시형태에서, 하나의 ABP는 이의 항원에 대한 또 다른 ABP의 결합을 적어도 25%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95% 감소시킨다. 당업자는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 대한 ABP의 친화도 및 ABP의 결합가에 기초하여 경쟁 검정에서 사용되는 항체의 농도를 선택할 수 있다. 이 정의에 기재된 검정은 예시적이며, 당업자는 항체가 서로 경쟁하는 지를 측정하기 위한 임의의 적합한 검정을 이용할 수 있다. 적합한 검정은 예를 들어, 문헌[Cox et al., "Immunoassay Methods," in Assay Guidance Manual [Internet], Updated December 24, 2014 (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; accessed September 29, 2015)]; 문헌[Silman et al., Cytometry, 2001, 44:30-37]; 및 문헌[Finco et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 2011, 54:351-358]에 기재되어 있으며; 이들의 각각은 그 전문은 참조에 의해 포함된다.

[0177] 용어 "에피토프"는 ABP에 특이적으로 결합하는 항원의 부분을 의미한다. 에피토프는 빈번히 표면-접근가능한 아미노산 잔기 및/또는 당 측쇄로 이루어지며, 특이적 3차원 구조적 특징, 뿐만 아니라 특이적 전하 특징을 가질 수 있다. 형태적 및 비-형태적 에피토프는 후자는 그렇지 않지만 전자에 대한 결합은 변성 용매의 존재 하에서 소실될 수 있다는 점에서 구별된다. 에피토프는 결합에 직접적으로 관여하는 아미노산 잔기, 및 결합에 직접적으로 관여하지 않는 다른 아미노산 잔기를 포함할 수 있다. ABP가 결합하는 에피토프는 에피토프 결정을 위한 알려진 기법, 예컨대, 예를 들어, 상이한 점-돌연변이를 갖는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 변이체에 대한, 또는 키메라 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 변이체에 대한 ABP 결합에 대한 시험을 사용하여 결정될 수 있다.

[0178] 폴리펩티드 서열 및 참조 서열 사이의 퍼센트 "동일성"은 서열을 정렬하고, 필요할 경우 갭을 도입하여 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성한 후, 참조 서열에서의 아미노산 잔기와 동일한 폴리펩티드 서열에서의 아미노산 잔기의 백분율로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 측정하는 목적을 위한 정렬은 당업계의 기술 내에 있는 다양한 방법으로, 예를 들어, 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대, BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, CLUSTAL OMEGA, 또는 MUSCLE 소프트웨어를 사용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하는 데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯한, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0179] 용어 "치료하는" (및 이의 변형어, 예컨대, "치료하다" 또는 "치료")은 이를 필요로 하는 대상체에서 질환 또는 병태의 자연적 과정을 변경시키려는 시도에서의 임상적 개입을 지칭한다. 치료는 예방을 위해 및 임상적 병리학의 과정 동안 둘 다 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질환의 발생 또는 재발의 예방, 증상의 경감, 질환의 임의의 직접적 또는 간접적 병리학적 결과의 감소, 전이의 예방, 질환 진행의 속도의 감소, 질환 상태의 개선 또는 호전, 및 완화 또는 개선된 예후를 포함한다.

[0180] 본원에서 사용되는, 용어 "대상체"는 포유동물 대상체를 의미한다. 예시적인 대상체는 인간, 원숭이, 개, 고양이, 마우스, 래트, 소, 말, 낙타, 염소, 토끼, 및 양을 포함한다. 특정 실시형태에서, 대상체는 인간이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 본원에 제공된 ABP, ABP-약물 접합체, 또는 CAR을 포함하는 면역반응성 세포로 치료될 수 있는 질환 또는 병태를 갖는다. 일부 실시형태에서, 질환 또는 병태는 암이다.

[0181] 본원에서 사용되는, 용어 "세포독성제"는 세포 기능을 저해하거나 방지하고/하거나, 세포 사멸 또는 파괴를 유발하는 물질을 지칭한다.

[0182] 본원에서 사용되는, 용어 "골수성"은 과립구(즉, 호중구, 호산구, 호염기구), 단핵구/대식세포, 적혈구, 거핵구

및 비만세포 계통에 속하는 모든 세포를 포함한다. 골수성 악성종양은 조혈 줄기 또는 전구 세포의 클론성 질환이다. 이러한 악성종양은 골수 및 말초혈액에 존재할 수 있다. 이는 자가 재생, 증식 및 분화 장애와 같은 주요 과정을 교란시키는 유전적 및 후생적 변화로 인해 발생할 수 있다.

- [0183] 3.2. 다른 해석적 규칙
- [0184] 본원에 언급된 범위는 언급된 종점을 포함하여 범위 내의 모든 값을 약칭하는 것으로 이해된다. 예를 들어, 1 내지 50의 범위는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 및 50으로 이루어진 군으로부터의 임의의 숫자, 숫자의 조합 또는 하위 범위를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0185] 달리 명시되지 않는 한, 하나 이상의 입체중심을 갖는 화합물에 대한 언급은 각각의 입체이성질체, 및 입체이성질체의 모든 조합을 의미한다.
- [0186] 3.3. 종양-특이적 항원을 표적으로 하는 조성물
- [0187] 본 개시내용의 일 양태는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 종양-특이적 항원을 표적으로 하는 단백질에 관한 것이다.
- [0188] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD63이다. 일부 실시형태에서, CD63은 CD63 유전자(12q13.2)(NCBI 수탁 번호: NG_008347, 유전자 ID 967)에 의해 암호화된 단백질이다.
- [0189] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD151이다. 일부 실시형태에서, CD151은 CD151 유전자(11p15.5)(NCBI 수탁 번호: NG_007478.1, 유전자 ID 977)에 의해 암호화된 단백질이다. 동일한 단백질을 암호화하는 다수의 교대로 스플라이싱된 전사체 변이체가 이 유전자에 대해 기재되어 있다. 스플라이스 변이체 중 임의의 것이 다양한 실시형태에서 사용될 수 있다.
- [0190] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD72이다. 일부 실시형태에서, CD72는 CD72 유전자(9p13.3)(NCBI 수탁 번호: NC_000009.12, 유전자 ID 971)에 의해 암호화된 단백질이다.
- [0191] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD84이다. 일부 실시형태에서, CD84는 CD84 유전자(1q23.3)(NCBI 수탁 번호: NC_000001.11, 유전자 ID 8832)에 의해 암호화된 단백질이다.
- [0192] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD69이다. 일부 실시형태에서, CD69는 CD69 유전자(12p13.31)(NCBI 수탁 번호: NC_000012.12, 유전자 ID 969)에 의해 암호화된 단백질이다.
- [0193] 일부 실시형태에서, 종양-특이적 항원은 CD109이다. 일부 실시형태에서, CD109는 CD109 유전자(6q13)(NCBI 수탁 번호: NC_000006.12, 유전자 ID 135228)에 의해 암호화된 단백질이다.
- [0194] 3.3.1. 항원 결합 단백질(ABP)
- [0195] 일 양태에서, 본 개시내용은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 특이적으로 결합하는 항원 결합 단백질(ABP)을 제공한다.
- [0196] 특정 실시형태에서, ABP는 CD63에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD151에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD72에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD84에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD69에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD109에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP는 인간 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 특이적으로 결합하는 단리된 항원 결합 단백질(ABP)이다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD84 또는 CD69에 특이적으로 결합한다.
- [0197] 일부 실시형태에서, ABP는 인간 Fc를 포함한다.
- [0198] 일부 실시형태에서, ABP는 인간, 인간화 또는 키메라 ABP이다.
- [0199] 특정 실시형태에서, ABP는 단클론성이다.
- [0200] 일부 실시형태에서, ABP는 투여되는 경우 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 유도할 수 있다. 일부 실시형태에서, 세포 표면 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 결합하는 ABP는 항체-의존성 세포-매개 세포독성(ADCC)을 발휘한다. 일부 실시형태에서, 자연 살해 (NK)세포는 ABP의 Fc 도메인의 NK 세포 표면 상의 CD16에 대한 결합에 의해서 ADCC를 발휘한다.
- [0201] 일부 실시형태에서, ABP는 항체 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 면역글로불린 불변 영역을 포함한

다. 항체 단편은 또한 임의의 합성 또는 유전자 조작된 단백질일 수 있다. 예를 들어, 항체 단편은 경쇄 가변 영역으로 이루어진 단리된 단편, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 이루어진 "Fv" 단편, 경쇄 및 중쇄 가변 영역이 펩티드 링커(scFv 단백질)에 의해서 연결된 재조합 단일 쇠 폴리펩티드 분자를 포함한다.

[0202] 항체 단편의 또 다른 형태는 항체의 하나 이상의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하는 펩티드이다. CDR("최소 인식 단위" 또는 "초가변 영역"이라고도 함)은 공유적으로 또는 비공유적으로 분자에 혼입되어 이를 항원 결합 단백질로 만들 수 있다. CDR은 관심 CDR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 작제하여 얻을 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오티드는 예를 들어, 항체 생산 세포의 mRNA를 주형으로 사용하여 가변 영역을 합성하기 위해 중합효소 연쇄 반응을 사용하여 제조된다(예를 들어, 문헌[Larrick et al., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 2:106, 1991]; 문헌[Courtenay Luck, "Genetic Manipulation of Monoclonal Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Production, Engineering and Clinical Application*, Ritter et al. (eds.), page 166 (Cambridge University Press 1995)]; 및 문헌[Ward et al., "Genetic Manipulation and Expression of Antibodies," in *Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Birch et al., (eds.), page 137 (Wiley Liss, Inc. 1995)] 참조).

[0203] 따라서, 일 실시형태에서, 항체 단편은 본원에 기재된 바와 같은 적어도 하나의 CDR을 포함한다. 결합체는 본원에 기재된 바와 같이 적어도 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개의 CDR을 포함할 수 있다. 항체 단편은 본원에 기재된 항체의 적어도 하나의 가변 영역 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 가변 영역 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성일 수 있으며, 일반적으로 인간 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 또는 CD109에 대한 결합을 담당하는 적어도 하나의 CDR 서열, 예를 들어, 본원에 구체적으로 기재되고 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 프레임 내에 있는 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함할 것이다. 일반적인 용어로, 가변(V) 영역 도메인은 면역글로불린 중쇄(V_H) 및/또는 경쇄(V_L) 가변 도메인의 임의의 적합한 배열일 수 있다. 따라서, 예를 들어, V 영역 도메인은 단량체일 수 있고, 1 nM 내지 1 pM 범위의 친화도로 표적 항원에 독립적으로 결합할 수 있는 V_H 또는 V_L 도메인일 수 있다. 대안적으로, V 영역 도메인은 이량체일 수 있고 V_H V_H, V_H V_L, 또는 V_L V_L 이량체를 함유할 수 있다. V 영역 이량체는 비공유 회합될 수 있는 적어도 하나의 V_H 및 적어도 하나의 V_L 쇠를 포함한다(이하 F_V로 지칭함). 원하는 경우, 쇠는 직접적으로, 예를 들어, 2개의 가변 도메인 사이의 이황화 결합을 통해, 또는 링커, 예를 들어, 펩티드 링커를 통해 공유로 결합되어 단일 쇠 Fv(scFv)를 형성할 수 있다.

[0204] 가변 영역 도메인은 임의의 자연 발생 가변 도메인 또는 이의 조작된 버전일 수 있다. 조작된 버전은 재조합 DNA 공학 기술을 사용하여 생성된 가변 영역 도메인을 의미한다. 이러한 조작된 버전은 예를 들어, 특정 항체의 아미노산 서열에 대한 삽입, 결실 또는 변경에 의해 특정 항체 가변 영역으로부터 생성된 버전을 포함한다. 특별한 예는 적어도 하나의 CDR 및 선택적으로 제1 항체로부터의 하나 이상의 프레임워크 아미노산 및 제2 항체로부터의 가변 영역 도메인의 나머지 부분을 함유하는 조작된 가변 영역 도메인을 포함한다.

[0205] 가변 영역 도메인은 C 말단 아미노산에서 적어도 하나의 다른 항체 도메인 또는 이의 단편에 공유적으로 부착될 수 있다. 따라서, 예를 들어, 가변 영역 도메인에 존재하는 V_H 도메인은 면역글로불린 CH1 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 유사하게, V_L 도메인은 CK 도메인 또는 이의 단편에 연결될 수 있다. 이러한 방식으로, 예를 들어, 항체는 항원 결합 도메인이 이의 C 말단에서 CH1 및 CK 도메인 각각에 공유 연결된 연관된 V_H 및 V_L 도메인을 함유하는 Fab 단편일 수 있다. CH1 도메인은 예를 들어, Fab' 단편에서 발견되는 힌지 영역 또는 힌지 영역 도메인의 일부를 제공하거나 항체 CH2 및 CH3 도메인과 같은 추가 도메인을 제공하기 위해 추가 아미노산으로 연장될 수 있다.

[0206] 본원에 기재된 바와 같이, 항체는 이들 CDR 중 적어도 하나를 포함한다. 예를 들어, 하나 이상의 CDR은 알려진 항체 프레임워크 영역(IgG1, IgG2 등)에 혼입되거나 적합한 비히클에 접합되어 이의 반감기를 향상시킬 수 있다. 적합한 비히클은 Fc, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 알부민, 트랜스페린 등을 포함되지만 이들로 제한되지 않는다. 이들 및 다른 적합한 비히클은 당업계에서 알려져 있다. 이러한 접합된 CDR 펩티드는 단량체, 이량체, 사량체 또는 다른 형태일 수 있다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 수용성 중합체는 결합체의 하나 이상의 특정 위치, 예를 들어 아미노 말단에 결합된다.

[0207] CD84 또는 CD69에 특이적으로 결합하는 본 개시내용의 ABP는 표 10(V_L 및 V_H CDR) 및 표 11(경쇄 및 중쇄 가변 영역)에서 확인할 수 있다.

[0208] [표 10]

ABP의 V_L 및 V_H CDR 서열

명칭	표적	LC CDR1	LC CDR2	LC CDR3	HC CDR1	HC CDR2	HC CDR3
A1		SGSSNIGSNYYVA (서열번호 45)	DTNKRPS (서열번호 52)	GTWDSLSLAEV (서열번호 55)	SNTASWN (서열번호 62)	KTEYRSGWFEYAPSVGG (서열번호 65)	DSYNDYDNDGFDI (서열번호 70)
C1		SGSSNIGSNYYVA (서열번호 45)	DTNKRPS (서열번호 52)	GTWDSLSLAEV (서열번호 55)	SNSASWN (서열번호 63)	KTEYRSKWYEFAPSVKS (서열번호 66)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)
F1		SGSSNVGNYYVA (서열번호 46)	DNYKRPS (서열번호 53)	GSWDSLSLAEV (서열번호 56)	SNSASWN (서열번호 63)	KTEYRSKWFEYAPSVKG (서열번호 67)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)
G1	CD69	SGSSNIGSNYYVS (서열번호 47)	DNNKRPS (서열번호 54)	GTWDSLSLAEV (서열번호 57)	STTASWN (서열번호 64)	KTEYRSKWFEYAPSVKG (서열번호 67)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)
C2		SGSSNIGDNLVS (서열번호 48)	DNNKRPS (서열번호 54)	ESWDNNLTAEV (서열번호 58)	SNSASWN (서열번호 63)	KVEYRSKWYDEYAPSVKS (서열번호 68)	DSYNGHAFDGFVDV (서열번호 72)
F2		SGSSNIEKNNYVS (서열번호 49)	DTNKRPS (서열번호 52)	GAWDNILNSEM (서열번호 59)	SNSASWN (서열번호 63)	KTEYRSKWFEYAPSVKG (서열번호 67)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)
H2		SGSSNIEKNNYVS (서열번호 49)	DTNKRPS (서열번호 52)	GAWDNILNSEM (서열번호 59)	SNSASWN (서열번호 63)	KTEYRSKWFEYAPSVKG (서열번호 67)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)
H3	CD69	SGRNSIANNFVS (서열번호 50)	DNNKRPS (서열번호 54)	ESWDSLSLAEV (서열번호 60)	SNTASWN (서열번호 62)	KTEYRSQWLHEYAPSVRS (서열번호 69)	DSYNGYAFDGFDT (서열번호 73)
F12	CD84	SGSSNIGSNYYVS (서열번호 47)	DNNKRPS (서열번호 54)	GTWDSLSLAEV (서열번호 55)	SNSASWN (서열번호 63)	KVEYRSKWYDEYAPSVKS (서열번호 68)	DSYNGHAFDGFVDV (서열번호 72)
B8	CD84	SGTTSIANNFVS (서열번호 51)	DNNKRPS (서열번호 54)	GVWDNSLNAEV (서열번호 61)	SNSASWN (서열번호 63)	KVEYRSKWYDEYAPSVKS (서열번호 68)	DSYNGHAFDGFVDV (서열번호 72)
B11		SGSSNIGSNYYVA (서열번호 45)	DTNKRPS (서열번호 52)	GTWDSLSLAEV (서열번호 55)	SNSASWN (서열번호 63)	KTEYRSKWYEFAPSVKS (서열번호 66)	DSYNGYDFDGFDI (서열번호 71)

[0209]

[0210]

일부 실시형태에서, ABP는 표 10의 서열번호 45 내지 51로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(V_L) CDR1을 포함한다.

[0211]

일부 실시형태에서, ABP는 표 10의 서열번호 52 내지 54로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(V_L) CDR2를 포함한다.

[0212]

일부 실시형태에서, ABP는 표 10의 서열번호 55 내지 61로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인(V_L) CDR3을 포함한다.

[0213]

일부 실시형태에서, ABP는 (a) 서열번호 45 내지 51로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적

어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR1; (b) 서열번호 52 내지 54로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR2; (c) 표 10의 서열번호 55 내지 61로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_L CDR3을 포함한다.

[0214] 일부 실시형태에서, ABP는 (a) 서열번호 62 내지 64로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 (V_H) CDR1을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 (b) 서열번호 65 내지 69로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR2를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 70 내지 73으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR3을 포함한다.

[0215] 일부 실시형태에서, ABP는 (a) SNTASWN(서열번호 62); SNSASWN(서열번호 63); 및 STTASWN(서열번호 64)으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR1; (b) 서열번호 65 내지 69로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR2; (c) 서열번호 70 내지 73으로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 V_H CDR3을 포함한다.

[0216] 일부 실시형태에서, ABP는 A1, C1, F1, G1, C2, F2, H2, H3, F12, B8, 및 B11로부터 선택된 항체와 동일한 CDR 서열을 포함한다.

[0217] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 65의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 70의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0218] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0219] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 46의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 53의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 56의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0220] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 57의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 64의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0221] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 48의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 58의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0222] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 49의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 59의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0223] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 49의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호

59의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 67의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0224] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 50의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 60의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 62의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 69의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 73의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0225] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 47의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0226] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 51의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 54의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 61의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 68의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 72의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0227] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 45의 서열을 갖는 V_L CDR1, 서열번호 52의 서열을 갖는 V_L CDR2, 서열번호 55의 서열을 갖는 V_L CDR3, 서열번호 63의 서열을 갖는 V_H CDR1, 서열번호 66의 서열을 갖는 V_H CDR2, 및 서열번호 71의 서열을 갖는 V_H CDR3을 포함한다.

[0228] 일부 실시형태에서, ABP는 항체를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, ABP는 단일 체 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체 단편을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 면역글로불린 불변 영역을 포함한다.

[0229] 일부 실시형태에서, ABP는 표 11의 서열번호 74 내지 88 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 가변 도메인을 포함한다.

[0230]

[표]

명칭	표적	가변 중쇄 서열	가변 경쇄 서열
A1		QVQLQQSGPGLVQPSRRLTSLTCAISGDSISNTAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVG GRNISPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYFCARDS YNDYDNDGFDIWGQGTLLVTVSS (서열번호 82)	가변 경쇄 서열 QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGSNVVAWYQQLPGTAPKLLIY DINKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCGTWDSSLSAEV FGTGTKVTVL (서열번호 74)
C1		QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNSAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVK SRTITPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYCVRDS YNGYDFDGFDIWGQGTLLVTVSS (서열번호 83)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGSNVVAWYQQLPGTAPKLLIY DINKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCGTWDSSLSAEV FGTGTKVTVL (서열번호 74)
F1		QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNSAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVK GRIAIRPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYCVRDS YNGYDFDGFDIWGQGTLLVTVSS (서열번호 84)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGSNVVAWYQQLPGTAPKLLIY DINKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQSGDEADY YCGSWDSSLSAEV FGGGTKLTAL (서열번호 75)
G1	CD69	QSVVTPPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNYYVS WYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGT SATL GITGLQTGDEADY YCGTWDSSLSAEMFGGG TKVTVL (서열번호 85)	QSVVTPPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNYYVSWYQQLPGTAPKLLIY DNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCGTWDSSLSAEM FGGGTKVTV (서열번호 76)
C2		QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNSAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVK SRIAIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYVCARDS YNGHAFDGFDDVWGQGTLLVTVSS (서열번호 86)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGDNLVSWYQQLPGTAPKLLIYD NNKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCESWDNNLTAEVF GTGTKVTVL (서열번호 77)
F2		QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNSAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVK GRIAIRPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYCVRDS YNGYDFDGFDIWGQGTLLVTVSS (서열번호 84)	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGDNLVSWYQQLPGTAPKLLIYD NNKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCESWDNNLTAEVF GTGTKVTVL (서열번호 77)
H2		QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNSAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVK GRIAIRPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYCVRDS YNGYDFDGFDIWGQGTLLVTVSS (서열번호 84)	QSVVTPPPSVSAAPGQKVTISCGSSSNIGNNYYVSWYQQLPGTAPKLLIY DNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCGTWDSSLSAEV FGGGTKLTVL (서열번호 78)
H3	CD69	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTLCAISGDSVFSNTAS WNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEYAPSVR SRIAIRPDTSKNQVSLQNSVTPEDTAVYCVRDS YNGYAFDGFDDTGWGQGTLLVTVSS (서열번호 87)	QSVVTPPPSVSAAPGQKVTISCGSRNSIANNFVSWYRQLPGTAPKLLIY DNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSA TLGITGLQTGDEADY YCESWDSSLTAEV FGTGTKVTVL (서열번호 79)

[0231]

				SRLAIRPDTSKNQVSLQLSFTVPEDTAVYYCVRDS YNGYAFDGFDTWGQGTILVTYSS (SEQ ID NO: 87)			QSVVTPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIY DNNKRPSPIDRPFSGSKSGTATLGHITGLQTGDEADYCGTWDSSLSAEV FGGKTKVTVL (SEQ ID NO: 80)
F12	CD84			QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAS WNWIRQSPRGLWLGKVEYRSKYYDEYAPSVK SRLAIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDSD YNGHAFDGFVWVGQGTMTVSS (SEQ ID NO: 88)	CD84		QSVLTQPPSLSAAPGQRVTISCSGTTSTNIANNFVSWYQQLSGSAPKLLIND NKKRPSGIPDRPFSGSKSGASATLAIITGLQTEDEADYCGVWDNSLNAEV FGGKTKVTVL (SEQ ID NO: 81)
B11				QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSAS WNWIRQSPRGLWLGKVEYRSKYYDEYAPSVK SRITITPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDS YNGYDFDGFDIWVGQGTILVTYSS (SEQ ID NO: 83)			QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYYVAWYQQLPGTAPKLLIY DTNKRPSGIPDRPFSGSKSGTATLGHITGLQTGDEADYCGTWDSSLSAEV FGGKTKVTVL (SEQ ID NO: 74)

[0232]

[0233]

일부 실시형태에서, ABP는 표 11의 서열번호 82 내지 88 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0234]

일부 실시형태에서, ABP는 표 11의 서열번호 74 내지 81 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 99%, 또는 적어도 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0235]

일부 실시형태에서, ABP는 A1, C1, F1, G1, C2, F2, H2, H3, F12, B8, 및 B11로부터 선택된 항체의 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0236]

일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 82의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 74의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0237]

일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 83의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 74의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.

- [0238] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 84의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 75의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0239] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 85의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 76의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0240] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 86의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 77의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0241] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 84의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 77의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0242] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 84의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 78의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0243] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 87의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 79의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0244] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 88의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 80의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0245] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 88의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 81의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0246] 일부 실시형태에서, ABP는 서열번호 83의 서열을 갖는 중쇄 가변 도메인 및 서열번호 74의 서열을 갖는 경쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0247] 일부 실시형태에서, ABP는 scFv를 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 scFv이다. 일부 실시형태에서, scFv는 표 12의 서열번호 89 내지 98 중 어느 하나의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0248]

[표 12]

ABP 의 scFv 아미노산 서열

scFv	아미노산 서열	서열번호
A1	QVQLQQSGPGLVQPSRTLSTCAISGDSISSNTASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRSGWFFEY APSVGGRVNISPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYFCARDSYNDYDNDGFDIWGQGTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTA PKLLIYDINKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWSSLSAEVFGTGKVT VL	89
C1	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWYYEF APSVKRITITPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTTLVTVSSGG GGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTAP KLLIYDINKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWSSLSAEVFGTGKVT L	90
F1	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWFDEY APSVKGRIAIRPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNVGNYYVAWYQVPGA APRLLIYDNYKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQSGDEADYYCGSWDSSLSAEVFGGKTL TAL	91
G1	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFSTASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWFDEY APSVKGRIAIRPDTSRNQVSLQLNSMTPEDTAVYFCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGNYYVSWYQQLPGT APKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWSSLSAEMFGGK VTVL	92
C2	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKVEYRSKWYDE YAPSVKSRIAIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDYNGHAFDGFVWGQGTTLVTVSS GGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGDNLVSWYQQLPGT APKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLDITGLQTGDEADYYCESWDNNLTAEVFGTGK VTVL	93
F2	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWFDEY APSVKGRIAIRPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIEKNYYVSWYQQLPGTA	94

[0249]

	PKLLIYDINKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGAWDNILNSEMFGGGTKLTVL	
H12	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWFDEYAPSVKGRIAIRPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEVFGGGTKLTVL	95
H3	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCDISGDSVFSNTASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSQWLHEYAPSVRSRIAIRPDTSKNQVSLQLSFVTPEDTAVYYCVRDSYNGYAFDGFDTWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGRNSNIANNFVSWYRQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLAITGLQTGDEADYYCESWDSLSAEVFGTGTKVTVL	96
F12	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKVEYRSKWYDEYAPSVKSRIAIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDYNGHAFDGFDFVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEVFGGGTKVTVL	97
B8	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKVEYRSKWYDEYAPSVKSRIAIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDYNGHAFDGFDFVWGQGTMTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGTTSNIANNFVSWYQQLSGSAPKLLINDNNKRPSGIPDRFSGSKSGASATLAITGLQTEDEADYYCGVWDNSLNAEVFGGGTKVTVL	98
B11	QVQLQQSGPGLVKPSQTLSLTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRSKWYEFYAPSVKSRITITPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGTILVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGSNYVAWYQQLPGTAPKLLIYDINKRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEVFGTGTKVTVL	90

[0250]

[0251]

특정 실시형태에서, ABP는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일쇄 항체 분자, 이중가변 도메인 항체, 단일가변 도메인 항체, 선형 항체, V 도메인 항체, 또는 이중특이적 탠덤 2가 scFv, 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE)를 포함한다.

[0252]

특정 실시형태에서, ABP는 Fc, 선택적으로 인간 Fc를 포함한다.

[0253]

일부 실시형태에서, ABP는 IgG, IgA, IgD, IgE, 및 IgM으로부터 선택된 클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 클래스 IgG 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된 하위클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시형태에서, ABP는 IgG1의 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0254]

일부 실시형태에서, ABP는 이중특이적 또는 다중특이적이다. 일부 실시형태에서, ABP는 아프코실화된다.

[0255]

또한 ABP를 포함하는 약학적 조성물 중 하나 이상, 및 약학적 조성물의 사용에 대한 설명서를 포함하는 키트가 제공된다. 또한 본원에 기재된 ABP를 포함하는 약학적 조성물이 제공된다.

[0256]

또한 본원에 제공된 ABP를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오티드, 또는 이의 일부가 제공된다. 또한 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공된다. 또한 이러한 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 숙주세포 및 이러한 벡터를 포함하는 재조합 숙주세포가 제공된다.

[0257]

또한 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 숙주세포를 사용하여 ABP를 생산하는 방법이 제공된다. 일부 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 특이적으로 결합하는 ABP의 생산 방법을 제공하며, 이 방법은 숙주 세포에서 ABP를 발현시키는 것 및 ABP를 단리시키는 것을 포함한다.

[0258]

3.3.2. ABP-약물 접합체

- [0259] 본 개시내용의 또 다른 양태는 항원 결합 단백질(ABP)-약물 접합체를 제공한다.
- [0260] 일부 실시형태에서, ABP-약물 접합체는 항원 결합 단백질(ABP), ABP에 연결된 세포독성제, 및 선택적으로 세포 독성제를 ABP에 연결하는 링커를 포함하며, 여기서 ABP는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합한다.
- [0261] 일부 실시형태에서, ABP-약물 접합체는 3.3.1에 기재된 항원 결합 단백질(ABP) 중 하나 이상을 포함한다.
- [0262] 특정 실시형태에서, ABP는 CD63에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD151에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD72에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD84에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD69에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, ABP는 CD109에 특이적으로 결합한다.
- [0263] 일부 실시형태에서, ABP는 인간, 인간화 또는 키메라 ABP이다. 일부 실시형태에서, ABP는 단클론성이다. 일부 실시형태에서, ABP는 이중특이적 또는 다중특이적이다.
- [0264] 일부 실시형태에서, ABP는 Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, scFv, (scFv)₂, 단일쇄 항체 분자, 이중 가변 도메인 항체, 단일 가변 도메인 항체, 선형 항체 또는 V 도메인 항체를 포함한다.
- [0265] 일부 실시형태에서, ABP는 Fc, 선택적으로 인간 Fc를 포함한다.
- [0266] 일부 실시형태에서, ABP는 IgG, IgA, IgD, IgE, 및 IgM으로부터 선택된 클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 클래스 IgG 및 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4로부터 선택된 하위클래스의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 IgG1의 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 가변 중쇄 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 가변 중쇄 영역 및 가변 경쇄 영역을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 항체 결합 단편이다. 항체 및 항원 결합 단편은 3.4.1 "항원 결합 단백질(ABP)"에 기재되어 있다.
- [0267] 일부 실시형태에서, 세포독성제는 항혈관신생제(anti-angiogenic agent), 세포자멸사촉진제(pro-apoptotic agent), 항유사분열제(anti-mitotic agent), 항키나제 작용제(anti-kinase agent), 알킬화제, 호르몬, 호르몬 효능제, 호르몬 길항제, 케모카인, 약물, 전구약물, 독소, 효소, 항대사물질, 항생제, 알칼로이드 또는 방사성 동위원소를 포함한다.
- [0268] 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능한 링커이다. 일부 실시형태에서, 링커는 절단 가능하지 않은 링커이다.
- [0269] 일부 실시형태에서, 링커의 골격은 100개 원자 이하, 예를 들어, 50개 원자 이하, 또는 20개 원자 이하 길이다. 다른 실시형태에서, 링커의 골격은 100개 원자 이상 길이다. 링커 또는 연결부는 2개의 기를 연결하는 공유결합일 수 있거나, 1 내지 100개 원자 길이(예컨대, 1 내지 50개 원자 길이 또는 1 내지 20개 원자 길이, 예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 또는 20개 탄소 원자 길이)의 쇠일 수 있으며, 링커는 선형, 분지형, 환식 또는 단일 원자일 수 있다. 특정 실시형태에서, 링커 골격의 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개 이상의 탄소 원자는 선택적으로 황, 질소 또는 산소 헤테로원자로 치환될 수 있다. 골격 원자 사이의 결합은 포화되거나 불포화될 수 있으며, 일반적으로 링커 골격에는 1개 이하, 2개 이하 또는 3개 이하의 불포화 결합이 존재한다. 링커는 예를 들어, 알킬, 아릴 또는 알케닐 기를 갖는 하나 이상의 치환기를 포함할 수 있다. 링커는 올리고(에틸렌 글리콜); 에테르, 티오에테르, 3차 아민, 선형 또는 분지형일 수 있는 알킬, 예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 1-메틸에틸(이소-프로필), n-부틸, n-펜틸, 1,1-디메틸에틸(t-부틸) 등을 포함할 수 있으나, 이들로 제한되지 않는다. 링커 골격은 환식 기, 예를 들어, 아릴, 헤테로사이클 또는 사이클로알킬 기를 포함할 수 있고, 여기서 환식 기의 2개 이상의 원자, 예를 들어 2, 3 또는 4개의 원자가 골격에 포함된다. 링커는 펩티드일 수도 있고 비펩티드일 수도 있다.
- [0270] 항체-약물 접합체 링커 및 화학물질의 비제한적 예는 미국 출원 공개 US20200277306호 및 US20190328900A1호; 및 미국 특허 제7750116B1호(전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아볼 수 있다. ADC 화학의 추가적인 비제한적 예는 문헌[Olivier et al., (2017) "Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical Outcomes to Target Cancer" ISBN: 978-1-119-06068-0]에 기재되어 있으며, 이의 전문은 참조에 의해 본원에 포함된다.
- [0271] 본 개시내용의 양태는 ABP-약물 접합체를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 부위-특이적 통합을 위한 표적 게놈 영역에 상동성인 서열을 추가로 포함한다. 일부

실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 CRISPR-Cas 시스템, 징크 핑거 뉴클레아제, 전사 활성화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 및 메가뉴클레아제와 같은 엔도뉴클레아제를 사용하여 유전자 편집을 위해 설계된다.

- [0272] 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 바이러스 또는 비-바이러스 벡터에 존재한다. 벡터는 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용될 수 있다.
- [0273] 일부 실시형태에서, 방법은 폴리뉴클레오티드를 포함하는 비-바이러스 벡터 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 비-바이러스 벡터 또는 비-바이러스 방법은 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용된다.
- [0274] 폴리뉴클레오티드를 전달하기 위해 본 방법에 사용될 수 있는 비-바이러스 전달 방법의 비제한적 예에는 물리적 방법, 바늘, 마이크로-발사체(micro-projectile) 유전자 전달 또는 유전자총, 전기천공, 초음파천공, 광천공, 자기감염(magnetofection), 히드로포레이션, 기계적 마사지, 화학적 벡터 무기 입자, 인산칼슘 입자, 자성 입자, 중합체 기반 벡터 또는 유전자 전달체, 예컨대, 실리카, 금, 양이온성 지질, 지질 나노 에멀전, 고체 지질 나노입자 폴리에틸렌이민(PEI), 키토산, 폴리(DL-락티드)(PLA) 및 폴리(DL-락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 덴드리머 또는 폴리메타크릴레이트를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 방법은 문헌[Ramamoorth et al., (Ramamoorth et al., (2015) *J. Clin. Diagnostic Res.* 9(1): GE01-GE06] 및 문헌[Sung et al., (Sung et al., (2019) *Biomaterials Research* 23(8), pgs 1-87)](전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아볼 수 있다.
- [0275] 3.3.3. 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE)
- [0276] 본 개시내용의 양태는 항원-결합 도메인 및 T-세포 활성화 도메인을 포함하는 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE)를 포함한다.
- [0277] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 ABP 중 임의의 하나이다.
- [0278] 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 세포의 항원-결합 도메인이다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD151에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD72에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD84에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD69에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD109에 특이적으로 결합한다.
- [0279] BiTE의 일 예는 세포외 인식 도메인(예를 들어, 항원-결합 도메인), 및 하나 이상의 T-세포 활성화 도메인의 융합물이다. 항원 결합 시, BiTE의 세포내 신호 전달 부분은 T 세포 특이적 분자에서 활성화 관련 반응을 개시하여 T 세포 활성화, 증양 사멸 및/또는 사이토카인 생성을 자극할 수 있다.
- [0280] 일부 실시형태에서, BiTE는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 항원-결합 도메인을 포함한다.
- [0281] 일부 실시형태에서, 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE)는 단일 폴리펩티드 쇠로서 생성된 2개의 scFv를 함유할 수 있다. 특정 실시형태에서, BiTE는 표적 단백질(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109)에 특이적으로 결합하는 항체의 2개의 scFv를 포함한다. BiTE 항체의 제조 및 사용 방법은 당업계에 기재되어 있다. 예를 들어, 문헌[Cioffi et al., *Clin Cancer Res* 18: 465, Brischwein et al., *Mol Immunol* 43:1129-43 (2006)]; 문헌[Amann M et al., *Cancer Res* 68:143-51 (2008)]; 문헌[Schlereth et al., *Cancer Res* 65: 2882-2889 (2005)]; 및 문헌[Schlereth et al., *Cancer Immunol Immunother* 55:785-796 (2006)]; 문헌[Huehls A., et al., *Immunol Cell Biol.* 93(3): 290-296 (2014)]; 문헌[Wang et al., *Antibodies.* 8(32): 1-30 (2019)](전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)을 참조하기 바란다.
- [0282] 일부 실시형태에서, 세포외 항원-결합 도메인은 표적 단백질(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109)에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0283] 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다. 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 CD3 ζ 의 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, T-세포 활성화 도메인은 ZAP-70 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인

인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 포함한다.

- [0284] 비제한적인 예에서, 항원 결합 도메인 및 T 세포 활성화 도메인 둘 다가 scFv를 포함하는 경우, scFv는 각각의 Fv의 중쇄 및 경쇄를 세린-글리신 링커 서열과 연결함으로써 생성될 수 있다.
- [0285] 특정 실시형태에서, 링커는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 또는 6개 이상의 GGGGS 반복부(서열번호 2로 개시된 "GGGGS")를 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 GGGGS의 아미노산 서열(서열번호 2)을 포함한다.
- [0286] 특정 실시형태에서, 링커는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 또는 10개 이상의 SGGGG 반복부(서열번호 3으로 개시된 "SGGGG")를 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 SGGGG의 아미노산 서열(서열번호 3)을 포함한다.
- [0287] 특정 실시형태에서, 링커는 중쇄 및 경쇄가 정상적인 형태로 회합할 수 있도록 펩티드를 충분히 길고 유연하게 만들 수 있다.
- [0288] 일부 실시형태에서, 링커는 강성 링커, 절단 가능한 링커, 또는 유연성 링커이다.
- [0289] 특정 실시형태에서, BiTE는 항원 결합 도메인과 T 세포 활성화 도메인을 연결하는 링커를 포함한다. 비제한적인 예로서, 항원 결합 도메인 및 T 세포 활성화 도메인 둘 다가 scFv를 포함하는 경우, GGGGS(서열번호 2) 반복 링커는 두 scFv를 연결할 수 있다.
- [0290] 일부 실시형태에서, 링커는 GGGGS의 아미노산 서열(서열번호 2)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 아미노산 서열 모티프 (G4S)_n을 포함하고, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10(서열번호 4)이다. 일부 실시형태에서, 링커는 SGGGG의 아미노산 서열(서열번호 3)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 아미노산 서열 모티프 (SG4)_n을 포함하고, 여기서 n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10(서열번호 5)이다. 일부 실시형태에서, 링커는 2개의 scFv를 연결한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상, 6개 이상, 7개 이상, 8개 이상, 9개 이상, 또는 10개 이상의 GGGGS반복부(서열번호 2로 개시된 "GGGGS")를 포함한다.
- [0291] 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 25개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 20개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 15개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 10개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 9개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 8개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 7개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 6개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 5개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 4개의 아미노산을 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 1 내지 2개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커는 1 내지 10개의 아미노산을 포함한다. 특정 실시형태에서, 링커의 길이는 2개의 scFv 사이의 이동의 유연성을 결정할 수 있고, 두 표적 세포에 대한 결합을 최적화하기 위해 더 많거나 더 적은 링커 반복부를 포함함으로써 조정될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시형태에서, 2개의 scFv를 연결하는 짧고 유연한 링커는 항원 결합 도메인과 T 세포 활성화 도메인의 자유 회전을 제공할 수 있다.
- [0292] 일부 실시형태에서, 링커는 아미노산 서열 GGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 6)를 포함한다. 일부 실시형태에서, 링커는 아미노산 서열 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS(서열번호 7)를 포함한다.
- [0293] 링커의 비제한적인 예는 문헌[Chen et al., (Chen X., Zaro J.L., Shen W.C. Fusion protein linkers: Property, design and functionality. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2013;65:1357-1369)]에서 찾아볼 수 있으며, 이의 전문은 참조에 의해 본원에 포함된다.
- [0294] 특정 실시형태에서, 링커는 (GGGGS)₃(서열번호 8), (G)₈(서열번호 9), (G)₆(서열번호 10), (EAAAK)₃(서열번호 11), (EAAAK)_n(서열번호 12)(여기서 n은 1 내지 3임), A(EAAAK)₄ALEA(EAAAK)₄A(서열번호 13), PAPAP(서열번호 14), AEAAAKEAAAKA(서열번호 15), (Ala-Pro)_n(여기서 n은 5 내지 17임)(서열번호 16), VSQTSKLTR↓AETVFPDV^b(서열번호 17), PLG ↓ LWA^c(서열번호 18), RVL↓AEA(서열번호 19); EDVVCC↓SMSY(서열번호 20), GGIEGR↓GS^c(서열번호 21), TRHRQPR↓GWE(서열번호 22), 및 AGNRVRR↓SVG(서열번호 23)로부터 선택된다. ^a프로테아제 민감성

절단 부위는 "↓"로 표시되고; ^b인자 XIa/FVIIa 민감성 절단; ^c매트릭스 메탈로프로테아제-1 민감성 절단 서열 (여기에 한 가지 예가 제공됨); ^dHIV PR(HIV-1 프로테아제); NS3 프로테아제(HCV 프로테아제); 인자 Xa 민감성 절단; ^eFurin 민감성 절단; ^fCathepsin B 민감한 절단.

- [0295] 본 개시내용의 양태는 BiTE를 포함하는 숙주 세포를 포함한다.
- [0296] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0297] 본 개시내용의 양태는 BiTE를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 부위-특이적 통합을 위한 표적 게놈 영역에 상동성인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 CRISPR-Cas 시스템, 징크 핑거 뉴클레아제, 전사 활성화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 및 메가 뉴클레아제와 같은 엔도뉴클레아제를 사용하여 유전자 편집을 위해 설계된다.
- [0298] 본 개시내용의 양태는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다. 유전자 전달에 사용될 수 있는 모든 벡터가 사용될 수 있다. 일부 변형에서, 바이러스 벡터(예컨대, AAV, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 레트로바이러스)가 사용된다. 본 개시내용에 사용될 수 있는 벡터의 비제한적인 예는 인간 면역결핍 바이러스; HSV, 단순 포진 바이러스; MMSV, 몰로니 뮤린 육종 바이러스; MSCV, 렌티바이러스, 뮤린 줄기세포 바이러스; SFV, 썸리키 삼립열 바이러스; SIN, 신드비스 바이러스; VEE, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스; VSV, 수포성 구내염 바이러스; VV 및 백시니아 바이러스를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0299] 일부 실시형태에서, 벡터는 재조합 AAV 벡터이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법에서 사용하기 위한 벡터는 바이러스 입자(예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, 및 AAV16을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 AAV 바이러스 입자) 내에 캡시드화된다.
- [0300] 일부 실시형태에서, 방법은 BiTE를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, T 세포는 외인성 BiTE의 발현을 통해서 아세포의 특이적 표적화를 촉진하기 위해서 바이러스 또는 비바이러스 벡터를 사용하여 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 벡터는 BiTE를 발현하는 면역반응성 세포를 생성하기 위해서 시험관내에서 사용된다.
- [0301] 일부 실시형태에서, 방법은 BiTE를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다.
- [0302] 일부 실시형태에서, 방법은 폴리뉴클레오티드를 포함하는 비-바이러스 벡터 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 비-바이러스 벡터 또는 비-바이러스 방법은 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용된다.
- [0303] 폴리뉴클레오티드를 전달하기 위해 본 방법에 사용될 수 있는 비-바이러스 전달 방법의 비제한적 예에는 물리적 방법, 바늘, 마이크로-발사체 유전자 전달 또는 유전자총, 전기천공, 초음파천공, 광천공, 자기감염, 히드로포레이션, 기계적 마사지, 화학적 벡터 무기 입자, 인산칼슘 입자, 자성 입자, 중합체 기반 벡터 또는 유전자 전달제, 예컨대, 실리카, 금, 양이온성 지질, 지질 나노 에멀전, 고체 지질 나노입자 폴리에틸렌이민(PEI), 키토산, 폴리(DL-락티드)(PLA) 및 폴리(DL-락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 덴드리머 또는 폴리메타크릴레이트를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 방법은 문헌[Ramamoorth et al., (Ramamoorth et al., (2015) *J. Clin. Diagnostic Res.* 9(1): GE01-GE06] 및 문헌[Sung et al., (Sung et al., (2019) *Biomaterials Research* 23(8), pgs 1-87)](전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아볼 수 있다.
- [0304] 3.3.4. 키메라 항원 수용체(CAR)
- [0305] 본 개시내용의 양태는 세포외 항원-결합 도메인, 막관통 도메인, 신호전달 도메인, 및 선택적으로, 공자극성 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함한다,
- [0306] 일부 실시형태에서, 세포외 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로

부터 선택된 표적 항원에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD63에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD151에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD72에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD84에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD69에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 CD109에 특이적으로 결합한다.

- [0307] 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 본원에 기재된 ABP 중 임의의 하나이다.
- [0308] CAR의 예는 세포의 인식 도메인(예를 들어, 항원-결합 도메인), 막관통 도메인, 및 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인의 융합물이다. 항원 결합 시, CAR의 세포내 신호전달 부분은 면역 세포에서 활성화 관련 반응을 개시하여 세포용해 분자를 방출하여 종양 세포 사멸 등을 유도할 수 있다.
- [0309] 일부 실시형태에서, CAR 은 세포의 항원-결합 도메인, 막관통 도메인, 신호전달 도메인, 및 선택적으로 공자극성 도메인을 포함하며, 여기서 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질/항원에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, CAR은 폴리펩티드의 힌지 영역을 추가로 포함한다.
- [0310] 일부 실시형태에서, 세포의 항원-결합 도메인은 표적 단백질(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109)에 특이적으로 결합하는 항체의 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.
- [0311] 일부 실시형태에서, 신호전달 도메인은 CD3 ζ의 세포내 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 신호전달 도메인은 ZAP-70 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 포함한다.
- [0312] 일부 실시형태에서, 하나 이상(예를 들어, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상)의 공자극성 도메인을 추가로 포함하며, 여기서 공자극성 도메인은 CD28 공자극성 도메인, 4-1BB 공자극성 도메인, CD27 공자극성 도메인, OX40 공자극성 도메인, 또는 ICOS 공자극성 도메인이다. 일부 실시형태에서, 공자극성 도메인은 4-1BB, CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR, 및 HVEM으로부터 선택된다.
- [0313] 일부 실시형태에서, CAR은 4-1BB, CD28, 또는 이의 단편을 포함한다. 특정 실시형태에서, CAR은 CD28 막관통 도메인 및 4-1BB를 포함한다. 특정 실시형태에서, CAR은 힌지 영역, CD28 막관통 도메인 및 4-1BB를 포함한다. 특정 실시형태에서, 힌지 영역은 CD28 폴리펩티드로부터 유래된다.
- [0314] 일부 실시형태에서, CAR은 CD28 폴리펩티드의 힌지 영역을 포함하며, 여기서 힌지 영역은 IEVMPYPPYLDNEKSNGTI IHVKGKHLCPSPFLPGPSKP(서열번호 99)의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 포함한다.
- [0315] 일부 실시형태에서, CAR은 FWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV(서열번호 100)의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 CD28 폴리펩티드의 막관통 도메인을 포함한다.
- [0316] 일부 실시형태에서, CD28 공자극성 도메인은 IEVMPYPPYLDNEKSNGTI IHVKGKHLCPSPFLPGPSKPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV(서열번호 102)의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.
- [0317] 일부 실시형태에서, 제타(CD3 ζ) 신호전달 도메인은 RVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQUALPPR(서열번호 101)의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다.
- [0318] 일부 실시형태에서, CAR은 제타(CD3 ζ) 신호전달 도메인과 조합하여 CD28 막관통(TM) 및 4-1BB 공자극성 도메인을 포함한다.
- [0319] 일부 실시형태에서, CAR 작제물은 플라스미드, 예컨대, pUC57 플라스미드에 배치된다. 제한 효소 기술을 사용하여, CAR의 암호 서열을 절단하고, 고역가 바이러스 벡터 생산을 위한 벡터 전달 플라스미드에 배치할 수 있다(예를 들어, 도 13 및 14 참조).
- [0320] 일부 실시형태에서, CAR은 신호 펩티드(예를 들어, 신호 간섭 펩티드(SIP))를 포함한다. 특정 실시형태에서, 신

호 펩티드는 MKHLWFFLLVAAPRWVLS(서열번호 103)의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는다. 특정 실시형태에서, 신호 펩티드는 ATGAAACACCTGTGGTTCCTCCTCTGCTGGTGGCAGCTCCAGATGGGTCTGTCC(서열번호 104)의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산에 의해서 암호화된다.

- [0321] 일부 실시형태에서, 세포의 항원-결합 도메인은 단일-쇄 가변 단편(scFv)이다. 일부 실시형태에서, 항원-결합 도메인은 표적 단백질(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및/또는 CD109)에 특이적으로 결합하는 항체의 scFv를 포함한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD63에 결합한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD151에 결합한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD72에 결합한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD84에 결합한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD69에 결합한다. 특정 실시형태에서, scFv는 표적 단백질 CD109에 결합한다. 일부 실시형태에서, scFv는 표 12의 서열번호 89 내지 98로부터 선택된 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0322] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 89의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0323] 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 상기와 같은 서열번호 89의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0324] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 90의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 90의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0325] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 91의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 91의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0326] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 92의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 92의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0327] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 93의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 93의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0328] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 94의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 94의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 갖는 scFv를 암호화한다.
- [0329] 일부 실시형태에서, scFv는 서열번호 95의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, scFv는 scFv 영역을 암호화하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 서열번호 95의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는

시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 30의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산을 포함한다.

[0342] 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 42의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 31의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산을 포함한다.

[0343] 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 43의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 32의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산을 포함한다.

[0344] 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 44의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 33의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산을 포함한다.

[0345] 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 36의 아미노산 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 도 27의 서열번호 34의 뉴클레오티드 서열과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 핵산을 포함한다.

[0346] 본 개시내용의 양태는 CAR을 포함하는 숙주 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 T-세포이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 CD4⁺ 및 CD8⁺ T-세포이다. 특정 실시형태에서, 숙주 세포는 나이브 세포 기억(T_n⁺) T-세포이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 줄기세포 기억(T_{scm}) T 세포이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 줄기세포 기억((T_{cm}) CD197[CCR7]⁺CD45R0⁻) T 세포이다. 일부 실시형태에서, 숙주 세포는 중추 기억(T_{cm}, CD197[CCR7]⁺CD45R0⁺) T 세포이다. CD197은 본원에서 "CCR7"과 상호교환적으로 사용된다.

[0347] 본 개시내용의 양태는 CAR을 포함하는 하나 이상의 숙주 세포를 포함한다. 특정 실시형태에서, CAR을 포함하는 하나 이상의 숙주세포는 나이브 및 줄기세포 기억(T_n⁺ T_{scm}, CD197[CCR7]⁺CD45R0⁻), 및 중추 기억(T_{cm}, CD197[CCR7]⁺CD45R0⁺) T 세포로부터 선택된다.

[0348] 일부 실시형태에서, CAR은 세포의 항원-결합 도메인, 막관통 도메인, 및 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, CAR은 세포의 항원-결합 도메인, 막관통 도메인, 신호전달 도메인, 및 공자극성 도메인을 포함하는 2세대 CAR이다. 일부 실시형태에서, CAR은 세포의 항원-결합 도메인, 폴리펩티드의 힌지 영역, 막관통 도메인, 및 신호전달 도메인을 포함한다.

[0349] 일부 실시형태에서, 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 표적 항원 상의 에피토프에 결합한다. 일부 실시형태에서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 CDR을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상기 세포의 항원-결합 도메인은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 단일-쇄 가변 단편(scFv)을 포함한다.

[0350] 본 개시내용의 양태는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 부위-특이적 통합을 위한 표적 게놈 영역에 상동성인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 CRISPR-Cas 시스템, 징크 핑거 뉴클레아제, 전사 활성화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 및 메가뉴클레아제와 같은 엔도뉴클레아제를 사용하여 유전자 편집을 위해 설계된다.

[0351] 본 개시내용의 양태는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다. 유전자 전달에 사용될 수 있는 모든 벡터가 사용될 수 있다. 일부 변형에서, 바이러스 벡터(예컨대, AAV, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 레트로바이러스)가 사용된다. 본 개시내용에 사용될 수 있는 벡터의 비제한적인 예는 인간 면역결핍 바이러스; HSV, 단순 포진 바이러스; MMSV, 몰로니 뮤린 육종 바이러스; MSCV, 렌티바이러스, 뮤린 줄기세포 바이러스; SFV, 썸리키 삼

림열 바이러스; SIN, 신드비스 바이러스; VEE, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스; VSV, 수포성 구내염 바이러스; VV 및 백시니아 바이러스를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.

- [0352] 일부 실시형태에서, 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 렌티바이러스는 레트로바이러스의 하위클래스이다. 그러나 렌티바이러스는 분열하지 않는 세포의 게놈에 통합될 수 있는 반면, 레트로바이러스는 분열하는 세포만 감염시킬 수 있다.
- [0353] 렌티바이러스 벡터는 일반적으로 수 개의 플라스미드로 형질전환된 패키징 세포주, 일반적으로 HEK293에서 생산된다. 플라스미드는 (1) 캡시드 및 역전사효소와 같은 비리온 단백질을 암호화하는 패키징 플라스미드, (2) 표적에 전달될 외인성 유전자를 포함하는 플라스미드를 포함한다.
- [0354] 바이러스가 세포 안으로 들어가면 RNA 형태의 바이러스 게놈이 역전사되어 DNA가 생성되고, 이는 바이러스 인테그라제 효소에 의해 게놈에 삽입된다. 따라서, 렌티바이러스 벡터와 함께 전달된 외인성은 게놈에 남아 있을 수 있으며 세포가 분열할 때 세포의 자손에게 전달된다.
- [0355] 일부 실시형태에서, 벡터는 재조합 AAV 벡터이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법은 바이러스 입자(예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, 및 AAV16을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 AAV 바이러스 입자) 내에 캡시드화된다.
- [0356] 아데노 연관 바이러스는 비분열 세포 및 다양한 유형의 세포를 감염시킬 수 있어서, 이들을 본 개시내용의 유전자 전달 시스템을 구성하는 데 유용하게 만든다. AAV 벡터의 사용 및 제조에 대한 상세한 설명은 미국 특허 제 5,139,941호 및 제4,797,368호에 기재되어 있다.
- [0357] 유전자 전달 시스템으로서 AAV에 대한 연구 결과는 문헌[LaFace et al, *Viology*, 162: 483486 (1988)], 문헌[Zhou et al., *Exp. Hematol.* (NY), 21:928-933(1993)], 문헌[Walsh et al, *J. Clin. Invest.*, 94:1440-1448(1994)] 및 문헌[Flotte et al., *Gene Therapy*, 2:29-37(1995)]에 개시되어 있다. 전형적으로, 재조합 AAV 바이러스는 2개의 AAV 말단 반복부가 축적하는 관심 유전자(즉, 전달될 테코린 유전자 및 관심 뉴클레오티드 서열)를 함유하는 플라스미드(문헌[McLaughlin et al., 1988]; 문헌[Samulski et al., 1989]) 및 말단 반복부가 없는 야생형 AAV 암호 서열을 함유하는 발현 플라스미드(문헌[McCarty et al., *J. Viral.*, 65:2936-2945(1991)])를 동시형질감염시킴으로써 제조된다.
- [0358] 일부 실시형태에서, 방법은 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터, 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 예를 들어, T 세포는 외인성 CAR의 발현을 통해서 아세포의 특이적 표적화를 촉진하기 위해서 바이러스 또는 비바이러스 벡터를 사용하여 변형될 수 있다. 일부 실시형태에서, 벡터는 CAR(예를 들어, CAR-T 세포)을 발현하는 면역반응성 세포를 생성하기 위해서 시험관내에서 사용된다. 본 개시내용의 양상은 CAR을 발현하는 면역반응성 세포를 포함한다. 본 개시내용의 양태는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함하는 면역반응성 세포를 포함한다.
- [0359] 일부 실시형태에서, 방법은 폴리뉴클레오티드를 포함하는 비-바이러스 벡터 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 비-바이러스 벡터 또는 비-바이러스 방법은 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용된다.
- [0360] 폴리뉴클레오티드를 전달하기 위해 본 방법에 사용될 수 있는 비-바이러스 전달 방법의 비제한적 예에는 물리적 방법, 바늘, 마이크로-발사체 유전자 전달 또는 유전자총, 전기천공, 초음파천공, 광천공, 자기감염, 히드로포레이션, 기계적 마사지, 화학적 벡터 무기 입자, 인산칼슘 입자, 자성 입자, 중합체 기반 벡터 또는 유전자 전달체, 예컨대, 실리카, 금, 양이온성 지질, 지질 나노 에멀전, 고체 지질 나노입자 폴리에틸렌이민(PEI), 키토산, 폴리(DL-락티드)(PLA) 및 폴리(DL-락티드-코-글리콜리드)(PLGA), 덴드리머 또는 폴리메타크릴레이트를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 방법은 문헌[Ramamoorth et al., (Ramamoorth et al., (2015) *J. Clin. Diagnostic Res.* 9(1): GE01-GE06)] 및 문헌[Sung et al., (Sung et al., (2019) *Biomaterials Research* 23(8), pgs 1-87)](전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아볼 수 있다.
- [0361] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 2개의 표적 단백질을 표적으로 하는 이중특이적 CAR-T이다. 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 (i) CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 표적 단백질; 및 (ii) CD3을 표적으로 하는 이중특이적 CAR-T이다. 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 (i) CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 하나의 표적 단백질; 및 (ii) CD123을 표적으로 하는 이중특이적

CAR-T이다.

- [0362] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 $\alpha\beta$ T 세포, $\gamma\delta$ T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포이다. 일부 실시형태에서, $\alpha\beta$ T 세포는 CD3⁺, T 세포, 또는 CD4⁺ T 세포 또는 CD8⁺ T 세포이다.
- [0363] 본 개시내용의 양태는 면역반응성 세포의 제조 방법을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 벡터를 면역반응성 세포에 형질주입 또는 형질도입하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 면역반응성 세포를 적어도 48시간 동안 확장시키는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 적어도 10의 감염 다중도로 형질도입된다.
- [0364] 일부 실시형태에서, 방법은 형질 도입 후 벡터를 세척하는 것 및 CAR T-세포를 적어도 14일 동안 확장시키는 것을 추가로 포함한다.
- [0365] 형질도입 효율은 디지털 액적 PCR(ddPCR)에 의해 측정될 수 있고, 세포당 벡터 카피 수(VCN)로 표현될 수 있다. 일부 실시형태에서, 면역반응성 CAR T-세포는 2.5 내지 33.5 범위(예를 들어, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5, 9, 9.5, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5, 14, 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5, 17, 17.5, 18, 18.5, 19, 19.5, 20, 20.5, 21, 21.5, 22, 22.5, 23, 23.5, 24, 24.5, 25, 25.5, 26, 26.5, 27, 27.5, 28, 28.5, 29, 29.5, 30, 30.5, 31.5, 32, 32.5, 33, 33.5 등)의 평균 VCN을 포함한다.
- [0366] 일부 실시형태에서, CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드 또는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 벡터를 면역반응성 세포 내에 형질도입한 후, 방법은 면역반응성 세포의 확장 속도를 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 면역반응 세포의 확장 속도는 2배 내지 20배(예를 들어, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20배)이다.
- [0367] 일부 실시형태에서, 면역반응성 세포는 나이브 및 줄기세포 기억($T_n + T_{scm}$, CD197⁺CCR7⁺CD45RO⁻), 및/또는 중추 기억(T_{cm} , CD197⁺CCR7⁺CD45RO⁺) T 세포이다.
- [0368] 일부 실시형태에서, 면역반응성 CAR T-세포는 빈 CAR-T 세포와 동일한 정도로 활성화 및 고갈을 모두 나타낸다. 이는 CD25, CD154, CD107a 및 CD137뿐만 아니라 CD366, CD223 및 CD279의 상향조절로 나타날 수 있다. 특정 실시형태에서, CAR을 함유하는 면역반응 세포는 T 세포 기능을 변경하지 않는다.
- [0369] 3.4. 진단 방법
- [0370] 일 양태에서, 본 개시내용은 암을 진단하는 방법을 제공한다. 특히, 방법은 대상체에서 골수성 장애 또는 급성 백혈병을 진단하는 데 사용될 수 있다. 방법은 대상체의 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 존재 또는 부재 또는 수준을 검출하는 단계를 포함하며, 여기서 종양-특이적 항원은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109로부터 선택된다.
- [0371] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플을 ABP와 접촉시키는 것을 포함하고, 여기서 ABP는 종양-특이적 항원에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP는 종양-특이적 항원에 결합하는 항체 또는 항원 결합 단편이다.
- [0372] 검출하는 단계에 사용될 수 있는 ABP는 섹션 3.3.1 "항원 결합 단백질(ABP)"에 설명되어 있다.
- [0373] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 유세포 분석법, 면역세포화학, 면역조직화학, 형광 또는 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 표지된다. 일부 실시형태에서, ABP는 형광단 또는 효소로 표지된다.
- [0374] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, mRNA 수준은 인시츄 혼성화, 역전사-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR), 또는 차세대 서열분석에 의해 측정된다.
- [0375] 일부 실시형태에서, 방법은 진단 결과에 기초하여 치료하는 것을 추가로 포함한다.
- [0376] 3.4.1. 생물학적 샘플
- [0377] 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 대상체의 혈액 샘플이다. 특정 실시형태에서, 혈액 샘플은 말초 혈액 샘플이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 골수 샘플이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 고형 또는 액

체 종양을 포함한다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 AML 환자-유래 이중이식편(PDX)이다.

[0378] 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 아세포를 포함한다. 특정 실시형태에서, 아세포는 골수성 아세포(예를 들어, 골수아세포), 림프성 아세포, 또는 골수성 아세포와 림프성 아세포의 조합으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 아세포는 골수성 아세포이다. 일부 실시형태에서, 아세포는 림프성 아세포이다. 일부 실시형태에서, 아세포는 골수성 아세포와 림프성 아세포의 조합이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 샘플은 AML 아세포이다.

[0379] 3.4.2. TSA의 존재 또는 수준의 검출

[0380] 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 하나의 TSA의 존재/부재 또는 수준(양)을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 2개의 TSA의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 3개의 TSA의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 4개의 TSA의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 5개의 TSA의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 6개의 TSA의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 것을 포함한다.

[0381] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플을 ABP와 접촉시키는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, ABP는 종양-특이적 항원 중 하나에 특이적으로 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD63 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD151 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD72 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD84 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD69 항체이다. 일부 실시형태에서, ABP는 항-CD109 항체이다.

[0382] 일부 실시형태에서, ABP는 표지된다. 일부 실시형태에서, ABP는 형광단 또는 효소로 표지된다. 일부 실시형태에서, ABP는 방사성동위원소로 표지된다. 일부 실시형태에서, ABP는 알칼리성 포스파타제, 서양고추냉이 피옥시다제, 베타-갈락토시다제, 담배 식각 바이러스 핵-포함- α 엔도펩티다제("TEV 프로테아제")와 커플링된다. 일부 실시형태에서, ABP는 1,8-ANS, 4-메틸움벨리페론, 7-아미노-4-메틸쿠마린, 7-히드록시-4-메틸쿠마린, 아크리딘, Alexa Fluor 350.TM., Alexa Fluor 405.TM., AMCA, AMCA-X, ATTO Rho6G, ATTO Rho11, ATTO Rho12, ATTO Rho13, ATTO Rho14, ATTO Rho101, Pacific Blue, Alexa Fluor 43Q.TM. Alexa Fluor480.TM., Alexa Fluor488.TM., BODIPY 492/515, Alexa Fluor 532.TM., Alexa Fluor 546.TM., Alexa Fluor555.TM. Alexa Fluor594.TM. BODIPY 505/515, Cy2, cyQUANT GR, FITC, Fluo-3, Fluo-4, GFP (EGFP), mHoneydew, Oregon Green.TM. 488, Oregon Green.TM. 514, EYFP, DsRed, DsRed2, dTomato, Cy3.5, Phycoerythrin(PE), Rhodamine Red, mTangerine, mStrawberry, mOrange, mBanana, Tetramethylrhodamine(TRITC), R-Phycoerythrin, ROX, DyLight 594, Calcium Crimson, Alexa Fluor594. TM., Alexa Fluor610.TM., Texas Red, mCherry, mKate, Alexa Fluor660.TM., Alexa Fluor680.TM. 알로피코시아닌, DRAQ-5, 카르복시나프토플루오레세인, C7, DyLight 750, Cellvue NIR780, DM-NERF, Eosin, Erythrosin, Fluorescein, FAM, Hydroxycoumarin, IRDyes (IRD40, IRD 700, IRD 800), JOE, 리사민 로다민 B, 마리나 블루, 메톡시 쿠마린, 나프토플루오레세인, PyMPO, 5-카르복시-4',5'-디클로로-2',7'-디메톡시 플루오레세인, 5-카르복시-2',4',5',7'-테트라클로로플루오레세인, 5-카르복시 플루오레세인, 5-카르복시로다민, 6-카르복시로다민, 6-카르복시테트라메틸 아미노, Cascade Blue, Cy2, Cy3, Cy5,6-FAM, 단실 클로라이드, HEX, 6-JOE, NBD(7-니트로벤즈-2-옥사-1,3-디아졸), Oregon Green 488, Oregon Green 500, Oregon Green 514, Pacific Blue, 프탈산, 테레프탈산, 이소프탈산, 크레실 패스트 바이올렛, 크레실 블루 바이올렛, 브릴리언트 크레실 블루, 파라아미노벤조산, 에리쓰로신, 프탈로시아닌, 아조메틴, 시아닌, 크산틴, 석시닐플루오레세인, 희토류 금속 크립테이트, 유로퓸 트리스비피리딘 디아민, 유로퓸 크립테이트 또는 킬레이트, 디아민, 디시아닌 및 La Jolla 블루 염료로 이루어진 군으로부터 선택되는 형광단과 커플링된다. 일부 실시형태에서, ABP는 양자점과 접합된다.

[0383] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 유세포 분석법, 면역조직화학, 면역형광, 또는 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 단계는 웨스턴 블롯팅을 포함한다. 일부 실시형태에서, 검출 단계는 질량 분석법을 포함한다.

[0384] 일부 실시형태에서, 검출하는 단계는 생물학적 샘플 내의 상기 종양-특이적 항원의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은 CD63의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은 CD151의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은 CD72의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은 CD84의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은

CD69의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다. 특정 실시형태에서, 방법은 CD109의 mRNA 수준을 측정하는 것을 포함한다.

- [0385] 일부 실시형태에서, mRNA 수준은 인시츄 혼성화, 역전사-중합효소 연쇄 반응(RT-PCR), 또는 서열분석(예를 들어, 차세대 서열분석)에 의해 측정된다.
- [0386] 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터의 샘플 내의 TSA의 존재/부재 또는 수준에 기초하여 대상체에서 암의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0387] 일부 실시형태에서, 대상체는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 적어도 하나의 TSA의 발현을 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 적어도 2개, 3개, 4개 또는 5개의 TSA의 발현을 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다.
- [0388] 일부 실시형태에서, 대상체는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 하나의 TSA의 발현을 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 적어도 3개, 4개 또는 5개의 TSA의 발현을 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109의 발현을 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다.
- [0389] 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 적어도 하나의 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 적어도 3개, 4개 또는 5개의 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다.
- [0390] 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, CD109로부터 선택된 적어도 하나의 TSA, 및 추가로 CD19, CD34, CD33, CD7, CD38, CD117, CD45, CD3, 및 HLA-DR로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 또는 적어도 9개의 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, CD109로부터 선택된 하나의 TSA, 및 추가로 CD19, CD34, CD33, CD7, CD38, CD117, CD45, CD3, 및 HLA-DR로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 또는 적어도 9개의 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 대조군 샘플과 비교하여 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, CD109, 및 추가로 CD19, CD34, CD33, CD7, CD38, CD117, CD45, CD3, 및 HLA-DR로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 또는 적어도 9개의 TSA의 발현 증가를 나타내는 경우 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 것으로 진단된다.
- [0391] 일 실시형태에서, 대상체는 TSA의 미리 결정된 참조 수준과 비교하여 또는 건강한 대상체로부터의 샘플과 비교하여 TSA 발현의 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 또는 적어도 90% 증가를 나타내는 경우 MD 또는 AL을 갖는 것으로 진단된다. 일부 실시형태에서, 대상체는 TSA의 미리 결정된 참조 수준과 비교하여 또는 건강한 대상체로부터의 샘플과 비교하여 TSA 발현의 적어도 2, 3, 4, 5, 10, 20, 50 또는 100배 증가를 나타내는 경우 MD 또는 AL을 갖는 것으로 진단된다.
- [0392] 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터의 샘플 내의 종양-특이적 항원의 존재 또는 수준의 검출에 기초하여 대상체에서 암의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 추가로 포함한다.

- [0393] 3.4.3. 골수성 장애 및 급성 백혈병
- [0394] 일부 실시형태에서 골수성 장애는 골수성 악성종양이다. 일부 실시형태에서 골수성 장애는 골수성 백혈병이다. 특정 실시형태에서, 골수성 백혈병은 급성 골수성 백혈병(AML)이다.
- [0395] 일부 실시형태에서 골수성 장애는 골수성 신생물이다. 일부 실시형태에서, 골수성 장애는 골수이형성 증후군(MDS), 골수증식성 신생물(MPN), 골수이형성/골수증식성 신생물(MDS/MPN), 호산구증가증 및 혈소판이나 섬유아 세포에서 유래한 성장인자 수용체의 이상과 관련된 골수성 악성종양으로부터 선택된다.
- [0396] 일부 실시형태에서, MDS는 단계통 이형성증을 동반한 불응성 혈소판감소증(불응성 빈혈; 불응성 호중구감소증, 불응성 혈소판감소증), 환형 시테로블라스트를 동반한 불응성 빈혈, 다계통 이형성증을 동반한 불응성 혈구감소증, 과잉 아세포-1을 동반한 불응성 빈혈, 과잉 아세포-2를 동반한 불응성 빈혈, 고립된 del(5q)을 갖는 골수이형성 증후군, 및 골수이형성 증후군으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, MPN은 만성 골수성 백혈병, 진성적 혈구 증가증, 본태 혈소판 증가증, 원발성 골수섬유증, 만성 호중구성 백혈병, 만성 호산구성 백혈병, 고호산구성 증후군 및 비만세포 질환으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, MDS/MPN은 만성 골수단구성 백혈병, 소아 골수단구성 백혈병 및 비정형 만성 골수성 백혈병으로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 골수성 신생물은 PDGFRA 재배열과 연관된 골수 신생물, PDGFRB 재배열과 연관된 골수 신생물, 및 FGFR1 재배열과 연관된 골수 신생물(예를 들어, 8p11 골수 증식성 증후군)로부터 선택된다. 일부 실시형태에서, 급성 백혈병은 급성 림프구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 림프구성 백혈병(LL), 골수성 백혈병(ML)으로부터 선택된다.
- [0397] 일부 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 소아 또는 성인 연령에서 발병한다. 일부 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 소아 AML이다. 특정 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 1 내지 18세인 대상체에서 발병한다. 특정 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 1일령 내지 18년령인 대상체에서 발병한다. 특정 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 1일령 내지 1년령인 대상체에서 발병한다.
- [0398] 일부 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 성인 AML이다. 특정 실시형태에서, 골수성 장애 및 급성 백혈병은 18세 초과, 20세 초과, 25세 초과, 30세 초과, 35세 초과, 40세 초과, 45세 초과, 50세 초과, 55세 초과, 60세 초과, 또는 65세 초과인 성인에서 발병한다.
- [0399] 3.5. 치료 방법
- [0400] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 혈액 악성종양을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공한다. 특정 실시형태에서, 혈액 악성종양은 불응성 B-세포 악성종양이다. B-세포 악성종양은 B-세포 급성 림프모구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병/소림프구성 림프종, 단클론성 B-세포 림프구증가증, B-세포 전림프구성 백혈병, 비장 변연부 림프종, 털상세포 백혈병, 비장 B-세포 림프종/백혈병, 분류 불가능 비장 미만성 적색수질 작은 B-세포 림프종, 털상세포 백혈병 변종, 림프형질구성 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 의미불명 단클론성 감마병증(MGUS) IgM, m 중쇄 질환, g 중쇄 질환, 중쇄 질환, MGUS IgG/A, 형질세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외 형질세포종, 단클론성 면역글로불린 침착 질환, 점막 관련 림프 조직의 림프절의 변연부 림프종(MALT 림프종), 결절 변연부 림프종, 소아 결절 변연부 림프종, 여포성 림프종, 제자리 여포성 신생물, 십이지장형 여포성 림프종, 소아형 여포성 림프종, IRF4 재배열을 동반한 거대 B-세포 림프종, 원발성 피부 여포 중심 림프종, 외투세포 림프종, 제자리 외투세포 종양, 배중심 B-세포 유형 및 활성화된 B-세포 유형을 포함하는 미만성 거대 B-세포 림프종(DLBCL) NOS, T 세포/조직구 풍부 거대 B-세포 림프종, 중추 신경계의 원발성 DLBCL, 원발성 피부 DLBCL, 다리 유형, EBV+ DLBCL NOS, EBV+ 점막피부 궤양, 만성 염증과 관련된 DLBCL, 림프종성 육아종증, 원발성 종격동(흉선) 거대 B-세포 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, ALK+ 거대 B-세포 림프종, 형질모구 림프종, 원발성 삼출성 림프종, HHV8+ DLBCL NOS, 버킷 림프종, IIq 이상이 있는 버킷-유사 림프종, MYC 및 BCL2 및/또는 BCL6 재배열 동반 고등급 B-세포 림프종, 고등급 B-세포 림프종 NOS 및 B-세포 림프종(분류 불가, DLBCL과 고전적 호지킨 림프종 사이의 중간 특징을 가짐)을 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 일부 실시형태에서, 본원에 기재된 항-CD72 나노바디로 치료되는 악성종양은 호지킨 림프종, 예를 들어, 결절성 림프구 우세형 호지킨 림프종, 또는 결절성 경화증 고전적 호지킨 림프종, 림프구 풍부 고전적 호지킨 림프종, 혼합 세포질 고전적 호지킨 림프종 및 호지킨 림프종, 및 림프구 고갈 고전적 호지킨 림프종을 비롯한 고전적 호지킨 림프종이다. 일부 실시형태에서, 대상체는 이식후 림프증식성 장애(PTLD), 예컨대, 형질세포 과다증 PTLN, 감염성 단핵구증 PTLN, 다형성 여포증식성 PTLN, 다형성 PTLN, 단형성 PTLN(B- 및 T-/NK-세포 유형), 또는 고전적 호지킨 림프종 PTLN를 갖는다.
- [0401] 일 양태에서, 본 개시내용은 혈액 악성종양, 예컨대, 악성 B-세포, 또는 악성 골수성 세포를 포함하는 악성종양

을 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시형태에서, 혈액 악성종양은 B-세포 백혈병이다. 일부 실시형태에서, B-세포 백혈병은 만성 림프구성 백혈병이다. 일부 실시형태에서, B-세포 백혈병은 혼합 계통 백혈병(MLL)이다. 일부 실시형태에서, 혈액 악성종양은 비호지킨 림프종이다. 일부 실시형태에서, 혈액 악성종양은 다발성 골수종이다. 일부 실시형태에서, 혈액 악성종양은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로부터 선택된 표적 단백질 중 임의의 하나를 발현하는 골수성 세포를 포함한다. 일부 실시형태에서, 혈액 악성종양은 표적 단백질 중 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상을 포함한다.

- [0402] 일 양태에서, 본 개시내용은 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체의 치료 방법을 제공한다.
- [0403] 일부 실시형태에서, 대상체는 표적 단백질 중 1개 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상을 포함한다.
- [0404] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법은 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 및 CD109로 이루어진 군으로부터 선택된 표적 단백질에 특이적으로 결합하는 치료제의 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료제는 본 명세서에 기재된 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE), 또는 표적 단백질에 특이적인 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포일 수 있다.
- [0405] 일부 실시형태에서, 치료제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포의 생존에 영향을 미치기에 충분한 양으로 투여된다. 특정 실시형태에서, 치료제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포를 제거하기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 치료제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포를 감소시키거나 사멸시키기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 치료제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 암 세포를 감소시키거나 사멸시키기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 치료제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109와 연관된 생물학적 효과를 저해하기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, 치료제는 대상체에서 암 세포의 생존에 영향을 미치기에 충분한 양으로 투여된다.
- [0406] 본 개시내용의 양태는 ABP ABP-약물 접합체, 이중특이적 T-세포 인게이지(BiTE), 또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 부위-특이적 통합을 위한 표적 게놈 영역에 상동성인 서열을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 폴리뉴클레오티드는 CRISPR-Cas 시스템, 징크 핑거 뉴클레아제, 전사 활성화화제-유사 효과기 뉴클레아제(TALEN) 및 메가뉴클레아제와 같은 엔도뉴클레아제를 사용하여 유전자 편집을 위해 설계된다.
- [0407] 본 개시내용의 양태는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 포함한다. 유전자 전달에 사용될 수 있는 모든 벡터가 사용될 수 있다. 일부 변형에서, 바이러스 벡터(예컨대, AAV, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 레트로바이러스)가 사용된다. 본 개시내용에 사용될 수 있는 벡터의 비제한적인 예는 인간 면역결핍 바이러스; HSV, 단순 포진 바이러스; MMSV, 모로니 뮤린 육종 바이러스; MSCV, 렌티바이러스, 뮤린 줄기세포 바이러스; SFV, 썬리키 삼립열 바이러스; SIN, 신드비스 바이러스; VEE, 베네수엘라 말 뇌염 바이러스; VSV, 수포성 구내염 바이러스; VV 및 백시니아 바이러스를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다.
- [0408] 일부 실시형태에서, 벡터는 렌티바이러스 벡터이다. 렌티바이러스는 레트로바이러스의 하위클래스이다. 그러나 렌티바이러스는 분열하지 않는 세포의 게놈에 통합될 수 있는 반면, 레트로바이러스는 분열하는 세포만 감염시킬 수 있다.
- [0409] 일부 실시형태에서, 벡터는 재조합 AAV 벡터이다. 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법은 바이러스 입자(예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10, AAV11, AAV12, AAV13, AAV14, AAV15, 및 AAV16을 포함하지만 이들로 제한되지 않는 AAV 바이러스 입자) 내에 캡시드화된다.
- [0410] 일부 실시형태에서, 방법은 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 벡터는 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용된다.
- [0411] 일부 실시형태에서, 방법은 치료제를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 비-바이러스 벡터, 또는 이의 약학적 조성물을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시형태에서, 비-바이러스 벡터 또는 비-바이러스 방법은 시험관내 또는 생체내에서 폴리뉴클레오티드를 표적 세포에 전달하는 데 사용된다.
- [0412] ABP를 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 전달하기 위해 본 방법에 사용될 수 있는 비-바이러스 전달 방법의 비제한적 예에는 물리적 방법, 바늘, 마이크로-발사체 유전자 전달 또는 유전자총, 전기천공, 초음파천공, 광천공,

자기감염, 히드로포레이션, 기계적 마사지, 화학적 벡터 무기 입자, 인산칼슘 입자, 자성 입자, 중합체 기반 벡터 또는 유전자 전달체, 예컨대, 실리카, 금, 양이온성 지질, 지질 나노 에멀전, 고체 지질 나노입자 폴리메타크릴레이트를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 이러한 방법은 문헌[Ramamoorth et al., (Ramamoorth et al., (2015) *J. Clin. Diagnostic Res.* 9(1): GE01-GE06)] 및 문헌[Sung et al., (Sung et al., (2019) *Biomaterials Research* 23(8), pgs 1-87)](전문이 참조에 의해 본원에 포함됨)에서 찾아볼 수 있다.

[0413] 일부 실시형태에서, 방법은 치료제 투여 전 또는 후에 섹션 3.4에 기재된 바와 같이 대상체의 생물학적 샘플에서 종양-특이적 항원의 존재/부재 또는 수준을 검출하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 치료 방법은 섹션 3.4에 기재된 방법을 사용하여 MD 또는 AL을 갖는 것으로 진단된 대상체를 치료하는데 사용된다. 일부 실시형태에서, 섹션 3.4에 기재된 진단 방법은 본원에 제공된 치료 방법의 효능을 확인하는데 사용된다. 일부 실시형태에서, 방법은 대상체로부터 얻은 샘플에서 골수성 장애(MD) 및 급성 백혈병(AL) 아세포의 존재 또는 부재를 결정하는 단계를 포함한다.

[0414] 일부 실시형태에서, 본 개시내용의 방법은 ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, CAR, 또는 CAR을 포함하는 면역반응성 세포 또는 이의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 골수성 장애(MD) 또는 급성 백혈병(AL)을 갖는 대상체를 치료하는 것을 포함한다.

[0415] 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR을 발현하는 면역반응성 세포는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포의 생존에 영향을 미치기에 충분한 양으로 투여된다. 특정 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR을 발현하는 면역반응성 세포는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포를 제거하기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR을 발현하는 면역반응성 세포는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 세포를 감소시키거나 사멸시키기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR을 발현하는 면역반응성 세포는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109를 발현하는 암 세포를 감소시키거나 사멸시키기에 충분한 양으로 투여된다. 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR을 발현하는 면역반응성 세포는 대상체에서 암 세포를 감소시키거나 사멸시키기에 충분한 양으로 투여된다.

[0416] 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D 로 표적 단백질에 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에 의해서 측정되는 경우 50 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D 로 표적 단백질에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0417] 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 생물층 간섭계에 의해서 측정되는 경우 500 nM 미만, 50 nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 1 nM 미만, 0.5 nM 미만 또는 0.1 nM 미만의 K_D 로 인간 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 결합한다. 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 생물층 간섭계에 의해서 측정되는 경우 500 nM 미만, 50 nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 1 nM 미만, 0.5 nM 미만 또는 0.1 nM 미만의 K_D 로 인간 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109에 결합하는 항원 결합 도메인을 포함한다.

[0418] 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 친화도 성숙에 의해서 얻어진 상업적인 항체 또는 이의 변형의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD69(예를 들어, Invitrogen 14-0699-82, ab201570, R&D MAB2359)에 대한 항체이다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD63에 대한 항체(예를 들어, ab59479, BD556019)이다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD151에 대한 항체(예를 들어, Invitrogen MA5-16443, BD 556056)이다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD84에 대한 항체(예를 들어, Biologend 326002, NOVUS NBP2-44345)이다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD109에 대한 항체(예를 들어, R&D MAB4385, BD56019)이다. 일부 실시형태에서, 상업적으로 입수 가능한 항체는 CD72에 대한 항체(예를 들어, Biologend 316202, BD 555917, MAB 5405, Invitrogen PAS-97567)이다.

[0419] 일부 실시형태에서, ABP, ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 CAR은 A1, C1, F1, G1, C2, F2, H2, H3, F12, B8, 및 B11의 항원 결합 도메인, 또는 이의 변형을 포함한다.

- [0420] 3.5.1. 추가 작용제
- [0421] 일부 실시형태에서, 본원에 제공된 치료 방법은 ABP 또는 이의 약학적 조성물, ABP-약물 접합체 또는 이의 약학적 조성물, BiTE 또는 이의 약학적 조성물, 또는 CAR을 발현하는 면역반응 세포 또는 이의 약학적 조성물과 조합하여 추가 작용제를 투여하는 것을 추가로 포함한다. 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 ABP 또는 이의 약학적 조성물, ABP-약물 접합체 또는 이의 약학적 조성물, BiTE 또는 이의 약학적 조성물, 또는 CAR을 발현하는 면역반응 세포 또는 이의 약학적 조성물과 별개로, 순차적으로 또는 함께 투여된다.
- [0422] 일부 실시형태에서, ABP 또는 이의 약학적 조성물은 추가 작용제와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, ABP-약물 접합체 또는 이의 약학적 조성물은 추가 작용제와 조합하여 투여된다. 일부 실시형태에서, CAR을 발현하는 면역반응성 세포 또는 이의 약학적 조성물은 추가 작용제와 조합하여 투여된다.
- [0423] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 화학치료제 또는 생물학적 제제이다.
- [0424] 특정 실시형태에서, 추가 작용제는 화학치료제이다. 특정 실시형태에서, 화학치료제는 시타라빈, 다우노루비신, 이다루비신, 클라드리빈, 미톡산트론, 아자시티딘, 데시타빈 및 CPX-351(Vyxeos[®])로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0425] 특정 실시형태에서, 화학치료제는 플루다라빈이다. 특정 실시형태에서, 화학치료제는 시클로포스파미드이다.
- [0426] 특정 실시형태에서, 추가 작용제는 생물학적 제제이다. 일부 실시형태에서, 생물학적 제제는 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69, 또는 CD109 이외의 표적 단백질에 대한 항체이다.
- [0427] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 소닉 헤지호그 경로 저해제이다. 일부 실시형태에서, 소닉 헤지호그 경로 저해제는 비스모데깁, 소니디깁 및 삼산화비소(ATO)로부터 선택된다. 특정 실시형태에서, 헤지호그 경로 저해제는 글라스테깁(Daurismo[™])이다.
- [0428] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 FMS-유사 티로신 키나제 3(FLT3) 저해제이다. 특정 실시형태에서, FLT3 저해제는 미도스타우린(Rydapt[®]), 길테리티닙(Xospata[®]), 소라페닙, 레스타우르티닙, 퀴자르티닙 및 크레놀라닙로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0429] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 이소시트레이트 데히드로게나제 1(IDH1) 또는 이소시트레이트 데히드로게나제 2(IDH2) 저해제이다. 특정 실시형태에서, IDH1 또는 IDH2 저해제는 이보시테닙(Tibsovo[®]) 또는 예나시테닙(IDhifa[®])이다.
- [0430] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 B-세포림프종 2(BCL2) 저해제이다. 특정 실시형태에서, BCL2 저해제는 베네토클락스(Venclexta[®])이다.
- [0431] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 CD33-표적화제이다. 특정 실시형태에서, CD33-표적화제는 켐투주맵 오조가미신(Mylotarg[™]) 또는 바다스투시맵 탈리린(SGN-CD33A)이다.
- [0432] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 세포 주기 체크포인트 저해제이다. 일부 실시형태에서, 세포 주기 체크포인트 저해제는 오로라 키나제 저해제, 폴로-유사 키나제 1(PLK1) 저해제, 사이클린 의존성 키나제(CDK) 저해제 또는 체크포인트 키나제 1(CHK1) 저해제이다.
- [0433] 일부 실시형태에서, 추가 작용제는 면역 체크포인트 저해제이다. 특정 실시형태에서, 면역 체크포인트 저해제는 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체 또는 항-PD-L1 항체이다.
- [0434] 3.6. 약학적 조성물
- [0435] 추가의 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 항원 결합 단백질(ABP), the ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 본원에 기재된 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포를 함유하는 약학적 조성물을 제공한다. 이러한 조성물은 약학적으로 허용 가능한 부형제과의 혼합물로 유효량의 항원 결합 단백질(ABP), ABP-약물 접합체, BiTE, 또는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포를 포함한다.
- [0436] 일 양태에서, 본 개시내용은 ABP 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.
- [0437] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 ABP-약물 접합체 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성

물을 포함한다.

- [0438] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 BiTE 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.
- [0439] 또 다른 양태에서, 본 개시내용은 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하는 면역반응성 세포 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 포함한다.
- [0440] 약학적 조성물은 예를 들어 조성물의 pH, 오스몰농도, 점도, 투명도, 색상, 등장성, 냄새, 무균성, 안정성, 용해 또는 방출 속도, 흡착, 또는 투과를 변형, 유지 또는 보존하기 위한 제형 물질을 함유할 수 있다.
- [0441] 적합한 제형 물질은 아미노산(예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌, 또는 리신); 향미생물제; 항산화제(예컨대, 아스코르브산, 아황산나트륨, 또는 아황산수소나트륨); 완충제(예컨대, 보레이트, 비카르보네이트, Tris-HCl, 시트레이트, 포스페이트, 또는 다른 유기산), 증량제(예컨대, 만니톨 또는 글리신); 킬레이팅제(예컨대, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA)); 착화제(예컨대, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린, 또는 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린); 충전제; 당류; 이당류; 및 다른 탄수화물(예컨대, 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린); 단백질(예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린), 착색제; 향미제 및 희석제; 유화제; 친수성 중합체(예컨대, 폴리비닐피롤리돈); 저분자량 폴리펩티드; 염-형성 반대이온(예컨대, 나트륨); 보존제(예컨대, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤조산, 살리실산, 치메로살, 페네틸 알콜, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로르헥시딘, 소르브산, 또는 과산화수소); 용매(예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜, 또는 폴리에틸렌 글리콜); 당 알코올(예컨대, 만니톨 또는 소르비톨); 현탁제, 계면활성제 또는 습윤제(예컨대, 플루로닉스(pluronic); PEG; 소르비탄 에스테르; 폴리소르베이트, 예컨대, 폴리소르베이트 20 또는 폴리소르베이트 80; 트리톤(triton); 트로메타민; 레시틴; 콜레스테롤 또는 틸록사팔 (tyloxapal)); 안정성 향상제(예컨대, 수크로스 또는 소르비톨), 양성 향상제(예컨대, 알칼리 금속 할라이드; 바람직하게는 염화나트륨 또는 염화칼륨; 또는 만니톨 소르비톨); 전달 비히클, 희석제, 부형제 및/또는 약학적 아쥘반트(adjuvant)를 포함하지만 이들로 제한되지 않는다. 중성 완충 식염수, 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수가 적합한 희석제이다. 적절한 산업 표준에 따라 벤질 알코올과 같은 보존제도 첨가될 수 있다. 조성물은 희석제로서 적절한 부형제 용액(예를 들어, 수크로스)을 사용하여 동결건조물로서 제형화될 수 있다. 적합한 성분은 사용된 투여량 및 농도에 서 수용자에게 무독성이다.
- [0442] 선택적으로, 조성물은 하나 이상의 추가 작용제, 예를 들어, 생리학적 활성제, 예컨대, 항-혈관신생 물질, 화학요법 물질(예컨대, 카페시타빈, 5-플루오로우라실 또는 독소루비신), 진통제 물질 등을 추가로 포함하고, 이의 비배타적 예가 본원에 제공되어 있다.
- [0443] 본 개시내용의 또 다른 실시형태에서, 본원에 개시된 조성물은 중성 또는 염 형태로 제형화될 수 있다. 예시적인 약학적으로 허용 가능한 염은 산부가염(단백질의 유리 아미노기로 형성됨)을 포함하며, 이는 예를 들어 염산 또는 인산과 같은 무기산, 또는 아세트산, 옥살산, 타르타르산, 만델산 등과 같은 유기산으로 형성된다. 유리 카르복실기로 형성된 염은 또한 예를 들어, 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘 또는 수산화철과 같은 무기 염기, 및 이소프로필아민, 트리메틸아민, 히스티딘, 프로카인 등과 같은 유기 염기로부터 유도될 수 있다. 제형화 시, 용액은 투여 제형과 상용성인 방식으로 그리고 치료적으로 유효한 양으로 투여될 것이다.
- [0444] 담체는 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 비히클, 코팅, 희석제, 항박테리아제 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연제, 완충제, 담체 용액, 현탁액, 콜로이드 등을 추가로 포함할 수 있다. 약학적 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 사용은 당업계에 잘 알려져 있다. 보충 활성 성분이 또한 조성물에 포함될 수 있다. "약학적으로 허용 가능한"이라는 어구는 인간에게 투여되었을 때 알레르기 또는 이와 유사한 바람직하지 않은 반응을 일으키지 않는 분자 실체 및 조성물을 지칭한다.
- [0445] 최적의 약학적 조성물은 예를 들어 의도된 투여 경로, 전달 형식 및 원하는 투여량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다. 예를 들어, 상기 문헌[Remington's Pharmaceutical Sciences]을 참조하기 바란다. 이러한 조성물은 폴리펩티드의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도 및 생체내 제거 속도에 영향을 미칠 수 있다. 예를 들어, 적합한 조성물은 주사용수, 비경구 투여용 생리 식염수일 수 있다.
- [0446] 일부 실시형태에서, 활성 성분(예를 들어, ABP, ABP-약물 접합체)은 적어도 0.01 mg/ml, 적어도 0.1 mg/ml, 적어도 0.5 mg/ml, 또는 적어도 1 mg/ml의 농도로 약학적 조성물에 존재한다. 특정 실시형태에서, 활성 성분은 적어도 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 또는 25 mg/ml의 농도로 약학적 조성물에 존재한다. 특정 실시형태에서, 활성 성분은 적어도 30 mg/ml, 35 mg/ml, 40 mg/ml, 45 mg/ml

또는 50 mg/ml의 농도로 약학적 조성물에 존재한다.

- [0447] 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 본 개시내용의 단백질 또는 폴리펩티드 외에 하나 이상의 추가 활성 성분을 추가로 포함한다. 추가 활성 성분은 3.5.1에 기재된 추가 작용제 중 하나 이상이다.
- [0448] 약학적 조성물은 인간 또는 수의학 의약에 적합한 임의의 투여 경로에 의한 투여를 위해 제형화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 주사에 적합하다. 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 정맥내, 근육내, 복강내 또는 피하 투여용으로 제형화된다. 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 정맥내 주입에 적합하다. 일부 실시형태에서, 약학적 조성물은 척수강내 또는 뇌실내 투여용으로 제형화된다.
- [0449] 다양한 실시형태에서, 단위 투여 형태는 바이알, 앰플, 병 또는 사전 충전된 주사기이다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 적어도 0.01 mg, 0.1 mg, 0.5 mg, 1 mg, 2.5 mg, 5 mg, 10 mg, 12.5 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 또는 100 mg의 ABP 또는 ABP-약물 접합체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 적어도 125 mg, 150 mg, 175 mg, 또는 200 mg의 ABP 또는 ABP-약물 접합체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 적어도 250 mg의 ABP 또는 ABP-약물 접합체를 함유한다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 적어도 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1.5×10^6 , 1×10^7 , 2×10^6 , 2.5×10^6 , 2.5×10^7 , 3×10^6 , 3.5×10^6 , 4×10^6 , 4.5×10^6 , 5×10^6 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2.5×10^8 , 5×10^8 , 7.5×10^8 , 1×10^9 , 2.5×10^9 , 5×10^9 , 1×10^{10} , 2.5×10^{10} , 5×10^{10} , 또는 1×10^9 개의 CAR을 발현하는 면역반응성 세포를 함유한다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 적어도 1.5×10^4 , 1.5×10^5 , 1.5×10^6 , 1.5×10^7 , 2.5×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2.5×10^8 , 5×10^8 , 7.5×10^8 , 1×10^9 , 2.5×10^9 , 5×10^9 , 1×10^{10} , 2.5×10^{10} , 5×10^{10} , 또는 1×10^9 개의 CAR을 발현하는 면역반응성 세포를 함유한다.
- [0450] 전형적인 실시형태에서, 단위 투여 형태의 약학적 조성물은 액체 형태이다. 다양한 실시형태에서, 단위 투여 형태는 0.1 mL 내지 50 mL의 약학적 조성물을 함유한다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 1 mL, 2.5 mL, 5 mL, 7.5 mL, 10 mL, 25 mL, 또는 50 mL의 약학적 조성물을 함유한다.
- [0451] 특정 실시형태에서, 단위 투여 형태는 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 또는 1 mg/ml 농도의 약학적 조성물 1 mL를 함유하는 바이알이다. 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태는 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 또는 1 mg/ml 농도의 약학적 조성물 2 mL를 함유하는 바이알이다.
- [0452] 일부 실시형태에서, 단위 투여 형태의 약학적 조성물은 가용화에 적합한 동결건조물과 같은 고체 형태이다.
- [0453] 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 일반적으로 치료 효과를 생성하는 화합물의 양일 것이다.
- [0454] 4. 실시예
- [0455] 4.1. 실시예 1: 종양-특이적 항원의 식별
- [0456] 종양-특이적 항원(TSA)을 도 1에 요약된 바와 같이 AML 환자 샘플로부터 식별하였다.
- [0457] 약술하면, 종양-특이적 항원에 대한 후보 유전자를 개량된 선택 과정을 적용하여 인실리코 표적 항원 발견 분석으로부터 얻었다. 유전자를 HTA 2.0(Affymetrix) 플랫폼에 의해 85개의 소아 AML 샘플(GSE75461)로부터 위험 계층화를 위해 이전에 생성된 유전자 발현 프로파일에 따라 AML 아세포에 의해 과발현되도록 선택하였다. HTA 2.0(Affymetrix) 플랫폼은 어레이에서 합성되는 보존된 서열을 최소화하여 귀중한 정보 수집을 극대화한다. 이러한 고해상도 어레이 설계는 암호 전사체 및 비-암호 전사체를 포괄하는 전례 없는 600만 개 초과 프로브를 함유하였다. 이 어레이 상의 프로브의 70%는 암호 전사체에 대한 엑손을 포괄하고, 어레이 상의 프로브의 나머지 30%는 엑손-엑손 스플라이스 접합 및 비암호 전사체를 포괄하였다. 이 어레이의 탁월한 커버리지는 사용 가능한 모든 암호 및 비암호 전사체에 대한 통찰력을 제공하였다.
- [0458] 데이터를 사용하여 과발현된 유전자, 즉 골수 건강한 대조 샘플이 아닌 모든 85개 AML 샘플에서 분포의 상위 변곡점을 초과(3.4 초과)하게 발현된 유전자(Benjamini-Hochberg 다중 교정 후 AML 환자 코호트 및 건강한 소아 공여자의 골수 샘플 3개에서 얻은 HTA-어레이의 limma 대비에 의한 과발현된 유전자)를 확인하였다.
- [0459] 유전자 중에서, 이들이 검증된 표면 단백질 데이터 세트(<http://wlab.ethz.ch/cspa/>)에 따라 세포 표면 단백질 항원(CSPA)인 경우 하위집합을 선택하였다. 그런 다음 이 프로세스의 후보자를 262개의 AML 소아 샘플의 유전자 발현 매트릭스가 다운로드된 공개 데이터 세트인 TARGET 데이터베이스를 사용하여 검증하였다. TARGET 데이터를 RMA 정규화하였고; 이탈리아 AML의 85명의 환자 코호트 및 262개의 TAGET AML 샘플을 z-점수 정규화하였고 따라

서 두 코호트 간의 박스 플롯을 통해 선택된 유전자의 상대적 발현을 비교할 수 있었다. 이것은 건강한 공여자 골수에서는 발현되지 않는 질환 발병 시 소아 AML의 가장 대표적인 표면 항원으로 **44개 유전자(제1 목록 - FL)**를 식별할 수 있게 하였다.

[0460] 그 다음 제1 목록-FL의 44개 후보 유전자를 광범위한 커버리지 및 특이성에 대해 공개 데이터베이스를 조사하여 분석하였고, 단백질 발현에 대한 다음 시험관내 시험에 들어갈 가장 유망한 표적을 선택하는 것을 목표로 하였다. GeneCards 소프트웨어를 사용하여 TSA 기능 설명, 유전자 염색체 위치, 알려진 병리/암과의 연관성, 정상 인간 조직에서의 mRNA 발현, 추정된 단백질 발현, 세포화 위치 및 관련 경로를 조사하고; Pubmed를 사용하여 AML을 포함한 암에 대한 TSA의 이전 개입을 조사하고 이전 CAR-T 개발 프로젝트에 대한 참여를 배제하였고, XenaBrowser를 사용하여 AML에서 후보 TSA의 발현 선택성을 예측하였다. 이는 1500+ 의 데이터세트 및 50+ 암 유형을 포함하여 공공 및 민간, 다중 오믹 및 임상/표현형을 탐색하기 위한 온라인 플랫폼이다. 이러한 도구는 The Cancer Genome Atlas(TCGA), International Cancer Genome Consortium(ICGC), Genomic Data Commons(GDC) 및 UCSC RNA-seq 개요의 데이터를 포함하여 정액 암 유전체학 데이터 세트의 대화형 온라인 시각화를 제공한다. Xena는 SNV, INDEL, 큰 구조 변형, 복제 수 변형, 유전자, 전사체, 엑손, miRNA, LncRNA, 단백질 발현, DNA 메틸화, ATAC-seq 신호, 표현형 주석 및 상위 수준의 유래된 게놈 매개변수를 포함하는, 사실상 모든 기능적 게놈 데이터를 지원한다. 이러한 개량된 프로세스를, 유전자 기능(암과 관련됨) 및 세포 표면 상의 국제화를 포함 기준으로 적용하고, i) 효소 및 리보솜 성분을 고려한 기능, ii) 핵막을 포함한 세포 표면 이외의 국제화; iii) AML 진단 패널 또는 CAR-T 개발에 대한 이전 약속, iv) 이전에 Espacenet, 상표 정보, 특허 범위를 조사하는 특허의 일부, 및 v) 여러 인간 조직에서 고도로 문서화된 발현을 제외 기준으로 적용한다. 이러한 개량 프로세스 종료 시 FL의 44개 유전자 중 26개가 폐기되었고, **18개의 후보 TSA**가 제공된다.

[0461] 그런 다음 본 출원인은 동일한 인실리코 데이터 세트를 조사하고 발현이 분포 변곡점(2.4 초과 및 3.4 미만) 미만인 유전자를 선택하여 제2 목록-SL을 생성하였다. 이러한 새로운 목록은 TSA 개량을 위해 상기에 기재된 동일한 분석 프로세스를 거친 추가 32개 후보 TSA를 포함하였다. SL에서 식별된 32개의 TSA 중 24개가 제외 기준(i-v)으로 인해 폐기되어 **8개의 추가 후보 TSA**가 제공되었다.

[0462] 그런 다음 이들 **26개 후보 TSA**(FL로부터의 18개 후보 TSA 및 SL로부터의 8개 추가 후보 TSA)를 유세포 분석법(FC)에 의해 단백질 발현 및 국제화에 대해 특징구명하였다. 후보 TSA를 인식하는 1차 상응용 항체를 먼저 양성 대조군 세포로 시험하였다. 항체가 대조군에 대한 염색을 제공하는 것으로 입증되면, 최소 2개의 AML 세포주(SHI-1 및 HL-60)를 사용하여 TSA에 대한 세포 표면 염색을 수행하였다. 26개 후보 TSA 중 11개가 유세포 분석법에 의해서 AML 세포 표면에서 발현되는 것으로 확인되었다(도 1에 제시된 바와 같이 강하게 또는 약하게 발현됨).

[0463] **6개의 AML-TSA**(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109)가 AML 세포주 SHI-1 및 HL-60을 사용한 유세포 분석법에 의해 검출된 강한 양성 신호 및 특이성을 기반으로 최종 선택되었다(도 1). 추가 검증을 위해, KASUMI-1, MOLM-13 및 MV4-11을 포함한 추가 AML 세포주에서의 발현을 유세포 분석법에 사용된 것과 동일한 항체를 사용하는 면역형광법으로 시험하였다.

[0464] 유세포 분석법 및 형광 면역조직화학 데이터를 도 2a 및 도 2b(CD69), 도 3a 및 도 3b(CD63), 도 4a 및 도 4b(CD151), 도 5a 및 도 5b(CD84), 도 6a 및 도 6b(CD109), 및 도 7a 및 도 7b(CD72)에 제공한다. 항원의 발현은 AML 세포에 특이적이었고 - 건강한 조혈 세포의 유세포 분석법에 의해서 발현이 훨씬 낮거나 전혀 검출되지 않았음 - 분획화된 하위집단을 도 2c(CD69), 도 3c(CD63), 도 4c(CD151), 도 5c(CD84), 도 6c(CD109), 및 도 7c(CD72)에 제공된 바와 같이 제대혈 샘플로부터 추출된 CD19+ B 림프구, CD3+ T 림프구, CD33+ 골수 전구 세포 및 CD34+ 세포를 포함하는 건강한 공여자 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 얻었다. 건강한 BM 하위집단, 정상 재생 골수, 정상 재생 골수의 CD34⁺ 및 CD34⁺CD38⁻ 하위집단, 급성 림프모구성 백혈병 환자의 게이팅된 아세포, 진단 시 AML 환자의 게이팅된 아세포, 재발 시 AML 환자의 게이팅된 아세포, 잔여 아세포가 있는 AML 환자의 게이팅된 아세포 및 골수성 신생물 환자와 같은 기타 악성 종양 환자의 게이팅된 아세포에서 TSA의 발현을 또한 각각 표 1 내지 표 8에 요약한다.

[0465] 표 1은 건강한 혈액 샘플에서 TSA의 발현을 제공하며, 말초 혈액 단핵 세포 하위집단에서 TSA의 불균일하고(heterogeneous) 약한 발현을 나타낸다.

[0466] [표 1]

건강한 혈액 단핵 세포 하위집단에서 선택된 TSA의 발현

	CD19 B-림프구	CD3 T-림프구	CD33 단핵구	CD33 과립구
CD69	1/6 POS D 5/6 NEG	3/9 POS D 6/9 NEG	1/8 POS D 7/8 NEG	3/9 POS M 6/9 NEG
CD63	6/6 NEG	9/9 NEG	1/8 POS B 2/8 POS M 5/8 NEG	1/9 POS B 3/9 POS D 5/9 NEG
CD151	6/6 NEG	5/9 POS D 4/9 NEG	3/8 POS M 1/8 POS D 4/8 NEG	3/9 POS D 6/9 NEG
CD84	6/6 NEG	6/9 POS D 3/9 NEG	3/8 POS M 5/8 NEG	9/9 NEG
CD109	2/9 POS D 4/6 NEG	1/8 POS M 6/8 POS D 1/8 NEG	8/8 NEG	9/9 NEG
CD72	1/6 POS D 5/6 POS M	2/9 POS D 7/9 NEG	8/8 NEG	9/9 NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함

POS M: 양성 중간

POS H: 양성 불균일함

PP2: 부분 양성 2

(AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)

POS D: 양성 약함

PP1: 부분 양성 1

(AIEOP-BFM 분류)

[0467]

[0468]

[표 2]

정상적인 재생 골수의 선택된 TSA 하위집단의 발현

	B-림프구	T-림프구	단핵구	골수구
CD69	NEG	POS B* (강함)	NEG	NEG
CD63	NEG	NEG	POS M (강함)	POS H (강함)
CD151	NEG	NEG	POS M (강함)	NEG
CD84	NEG	NEG	POS B (강함)	POS H (강함)
CD109	NEG	NEG	NEG	NEG
CD72	POS B (강함)	NEG	NEG	NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함

POS M: 양성 중간

POS H: 양성 불균일함

PP2: 부분 양성 2

(AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)

POS D: 양성 약함

PP1: 부분 양성 1

(AIEOP-BFM 분류)

[0469]

[0470]

표 2는 요법 종료 시 수집된 재생 골수로부터의 건강한 하위집단에서의 TSA 발현을 제공하며, 3/6 TSA에서 골수

계통의 하위집단에서 낮은/약한 발현을 나타내었다.

[0471]

[표 3]

정상적인 재생 골수에서 **CD34⁺** 및 **CD34⁺CD38⁻** 하위집단에서 선택된 **TSA**의 발현

	CD34⁺	CD34⁺ CD38⁻
CD69	NEG	NEG
CD63	6/11 약한 POS (D) 5/11 NEG	6/11 약한 POS (D) 5/11 NEG
CD151	9/12 약한 POS (PP1) 1/12 강한 POS (PP2) 2/12 NEG	7/12 약한 POS (D) 3/12 강한 POS (M) 2/12 NEG
CD84	11/12 약한 POS (PP1) 1/12 강한 POS (PP2)	12/12 약한 POS (D)
CD109	강한 POS (H)	강한 POS (B)
CD72	강한 POS (PP2)	NEG

강한 양성 (*WHO 분류*)

POS B: 양성 선명함

POS M: 양성 중간

POS H: 양성 불균일함

PP2: 부분 양성 2

(*AIEOP-BFM 분류*)

약한 양성 (*WHO 분류*)

POS D: 양성 약함

PP1: 부분 양성 1

(*AIEOP-BFM 분류*)

[0472]

[0473]

표 3은 요법 종료 시 수집된 재생 골수로부터의 줄기-전구체 **CD34⁺CD38⁻** 하위집단에서의 **TSA** 발현을 제공하며, **TSA** 일부에 대해 약한 발현을 나타내었다.

[0474] [표 4]

진단 시 B 또는 T 급성 림프모구성 백혈병에서 TSA의 발현

	B-아세포	T-아세포
CD69	3/6 POS H (강한 POS) 3/6 POS D (약한 POS)	POS D (약한 POS)
CD63	1/6 POS H 5/6 NEG	NEG
CD151	6/6 NEG	NEG
CD84	6/6 NEG	POS M (강한 POS)
CD109	5/6 POS D (약한 POS) 1/6 NEG	NEG
CD72	4/6 POS B (강한 POS) 2/6 POS H (강한 POS)	NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함

POS M: 양성 중간

POS H: 양성 불균일함

PP2: 부분 양성 2

(AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)

POS D: 양성 약함

PP1: 부분 양성 1

(AIEOP-BFM 분류)

[0475]

[0476]

표 4는 진단 시 급성 림프모구성 백혈병 샘플에서의 TSA 발현을 제공하며, 모든 TSA가 B-림프아세포를 검출하는데 적합한 반면, T-림프아세포는 CD69 및 CD84만을 발현했음을 나타내었다.

[0477] [표 5]

진단 시 AML에서 TSA의 발현

	아세포 (WHO 분류)	아세포 (AIEOP-BFM 분류)
CD69	1/10 POS B 3/10 POS M 1/10 POS H 3/10 POS D 2/30 NEG	4/10 강한 POS 4/30 약한 POS 2/30 NEG
CD63	1/10 POS B 3/10 POS H 1/10 POS M 1/10 PP2 D 2/10 POS 3 2/10 NEG	5/10 강한 POS 3/10 약한 POS 2/10 NEG
CD151	1/10 POS B 2/10 POS B 2/10 POS H 3/10 POS D 2/10 NEG	3/10 강한 POS 5/10 약한 POS 2/10 NEG
CD84	5/10 POS B 3/10 POS M 1/10 POS D 1/10 PP1	8/10 강한 POS 2/10 약한 POS
CD109	2/5 POS H 3/5 NEG	2/5 강한 POS 3/5 NEG
CD72	1/3 POS D 2/3 NEG	1/3 약한 POS 2/3 NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함
POS M: 양성 중간
POS H: 양성 불균일함
PP2: 부분 양성 2
 (AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)

POS D: 양성 약함
PP1: 부분 양성 1
 (AIEOP-BFM 분류)

[0478]

[0479]

표 5는 진단 시 급성 골수성 백혈병 샘플에서의 TSA 발현을 제공하며, 골수성 모세포를 검출하는 데 모든 TSA가 적합하고, CD69 및 CD84가 가장 특이이라는 것을 나타내었다.

[0480] [표 6]

재발 시 AML에서 TSA의 발현

	아세포 (WHO 분류)	아세포 (AIEOP-BFM 분류)
CD69	2/3 POS B 1/3 DIM	2/3 강한 POS 1/3 약한 POS
CD63	1/3 POS H 1/3 POS D 1/3 NEG	1/3 강한 POS 1/3 약한 POS 1/3 NEG
CD151	1/3 POS B 1/3 POS M 1/3 POS D	2/3 강한 POS 1/3 약한 POS
CD84	3/3 POS B	3/3 강한 POS
CD109	1/3 POS B 1/3 POS H 1/3 NEG	2/3 강한 POS 1/3 NEG
CD72	1/3 POS M 2/3 NEG	1/3 강한 POS 2/3 NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함
POS M: 양성 중간
POS H: 양성 불균일함
PP2: 부분 양성 2
 (AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)
POS D: 양성 약함
PP1: 부분 양성 1
 (AIEOP-BFM 분류)

[0481]

[0482]

표 6은 진단 시 급성 골수성 백혈병 샘플에서의 TSA 발현을 제공하며, 질환 재발 시 모세포를 검출하는 데 모든 TSA가 적합하고, CD69 및 CD84가 보다 특이이라는 것을 나타내었다.

[0483] [표 7]

잔여 모세포를 갖는 치료된 AML에서 TSA의 발현(<5%)

	아세포 (WHO 분류)	아세포 (AIEOP-BFM 분류)
CD69	2/7 POS M 1/7 PP1 2/7 POS D 2/7 NEG	2/7 강한 POS 3/7 약한 POS 2/7 NEG
CD63	2/6 POS B 3/6 POS D 1/6 NEG	2/6 강한 POS 3/6 약한 POS 1/6 NEG
CD151	1/3 POS M 2/3 POS D	1/3 강한 POS 2/3 약한 POS
CD84	6/7 POS M 1/7 NEG	6/7 강한 POS 1/7 NEG
CD109	1/1 NEG	1/1 NEG
CD72	1/1 NEG	1/1 NEG

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함
POS M: 양성 중간
POS H: 양성 불균일함
PP2: 부분 양성 2
(AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)
POS D: 양성 약함
PP1: 부분 양성 1
(AIEOP-BFM 분류)

[0484]

[0485] 표 7은 아세포의 0 내지 5% 범위인 골수성 잔여 질환의 요법 동안 수집된 골수 샘플에서의 TSA 발현을 제공하며, CD69 및 CD84가 낮은 질환 수준을 검출하는 데 가장 적합하다.

[0486] [표 8]

골수성 신생물에서 TSA의 발현

	아세포 (WHO 분류)	아세포 (AIEOP-BFM 분류)
CD69	1/4 POS B 2/4 POS D 1/4 NEG	1/4 강한 POS 2/4 약한 POS 1/4 NEG
CD63	2/3 POS D 1/3 NEG	5/7 강한 POS 2/7 NEG
CD151	1/2 POS B 1/2 POS M	2/2 강한 POS
CD84	2/4 POS B 1/4 POS M 1/4 POS D	3/4 강한 POS 1/4 약한 POS

강한 양성 (WHO 분류)

POS B: 양성 선명함
POS M: 양성 중간
POS H: 양성 불균일함
PP2: 부분 양성 2
(AIEOP-BFM 분류)

약한 양성 (WHO 분류)
POS D: 양성 약함
PP1: 부분 양성 1
(AIEOP-BFM 분류)

[0487]

[0488] 표 8은 진단 시 골수성 신생물의 골수 샘플에서의 TSA 발현을 제공하며, 이형성 세포를 나타내는 CD69, CD84 및

CD72의 능력을 나타낸다.

- [0489] 건강한 공여자 1차 섬유아세포에서 TSA의 발현이 없거나 더 낮은 것을 관찰함으로써 특이적 발현을 추가로 확인하였다(도 8).
- [0490] TSA의 발현을 AML과 다른 고형 및 액상 종양을 나타내는 다른 암 세포주에서도 시험하였다(도 10). 6개의 TSA는 다양한 수준으로 발현되었지만, 이들 다른 암 세포에서는 전반적인 발현 수준이 낮았다.
- [0491] 이들 연구는 6개의 선택된 TSA가, 시험된 AML 세포주의 전부는 아니더라도 대부분에서 강력하고 선택적으로 발현된다는 것을 나타낸다. 실험실에서 이용 가능한 2개의 AML 환자 유래 외식편(PDX)(1차 소아 AML 샘플에서 생성됨)을 사용하여 유전자 발현 프로파일을 조사하여 6개 TSA의 과발현을 또한 평가하고 확인하였다.
- [0492] 유전적 위험 계층화에 따라 진단을 위해 또는 치료 후 관해 시험을 위해 얻은 소아 AML 샘플에서 이들의 mRNA 발현을 평가함으로써 TSA 안정성 및 예측 값을 조사하였다. TSA 과발현은 질환의 활성 단계(진단 시) 동안 확인되었으며 치료 종료 시 수집된 샘플에서는 발현이 감소하였다.
- [0493] **방법**
- [0494] **환자의 샘플 및 세포주.** 표준화된 운영 절차에 따라 골수(BM) 샘플을 수집, 처리 및 분석하였다. 새로운 AML의 영향을 받은 환자의 샘플 42개 - 진단 시 30개, 재발 시 AML 12개. 골수성 신생물 샘플 4개, 잔여 아세포(5% 미만) 요법 동안 수집된 AML 샘플 7개, 진단 시 B-ALL 샘플 6개 및 T-ALL 샘플 1개, 질환 관해인 경우 그리고 이전에 정의된 재생 특성을 갖는 추적 관찰 동안 수집된 BM 샘플 13개(문헌[Buldini B. et al., BJH 2018]).
- [0495] 모든 AML 세포주는 DSMZ에서 구입하였다. HL-60, Kasumi-1 및 MOLM-13을 1% 페니실린-스트렙토마이신(GIBCO, Life Technologies, 미국 뉴욕주 그랜드 아일랜드 소재), 1% L-글루타민(GIBCO) 및 10% 소 태아 혈청(GIBCO)이 보충된 RPMI(GIBCO, Life Technologies, 영국 페이슬레이 소재)에서 배양하였다. MV4-11 및 SHI-1을 1% 페니실린-스트렙토마이신, 1% L-글루타민 및 10% 소 태아 혈청이 보충된 둘베코 변형 배지(GIBCO)에서 배양하였다.
- [0496] Ficoll 밀도 분리에 의해 사전 동의를 받은 건강한 공여자의 연막으로부터 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 얻었다. Ficoll 밀도 분리에 이어 프로토콜에 따라 CD34 MicroBead Kit(Miltenyi Biotech GmbH, 독일 베르기슈 글라트바흐 소재)로부터의 컬럼에서 자기 분리함으로써 사전 동의를 받은 건강한 공여자의 체대혈로부터 CD34 양성 세포를 얻었다. 진혈(튜브당 최대 100 µL)의 1차 세포를 접합된 항체로 염색하였다.
- [0497] **유세포 분석법 분석.**
- [0498] BM 샘플을 암실에서 15분 동안 1차 접합된 항체로 염색한 후 용혈시킨 후 원심분리하였다. 세포를 PBS에 재현탁하고 최소 30,000개의 사건을 획득하는 BD FACS CANTO II로 분석하였다.
- [0499] 임상 다중 매개변수 분석(표 4)에 사용된 1차 항체는 CD69 A488 (R&D Systems, 카탈로그 번호 FAB23591G), CD63 PE (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 556020), CD151 PE (R&D Systems, 카탈로그 번호 FAB1884P), CD84 APC (Biolegend, 카탈로그 번호 326010), CD109 A488 (R&D Systems, 카탈로그 번호 FAB4385G), CD72 BV421 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 743794) together with the following 항-인간 antibodies: CD45 V500 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 560777), CD45 APC-Cy7 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 348815), CD34 PC5 (Beckman Coulter, 카탈로그 번호 A07777), CD38 PE-Cy7 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 335825), CD33 APC (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 551378), CD7 V450 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 642916), HLA-DR V500 (BD Horizon, 카탈로그 번호 561224), CD33 PC5 (Beckman Coulter, 카탈로그 번호 I112647), CD117 PC7 (Beckman Coulter, 카탈로그 번호 IM3698), CD34 A750 (Beckman Coulter, 카탈로그 번호 B92463), CD38 V450 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 561378) CD19 PE (exbio, 카탈로그 번호 1P-305-T100), CD7 PC5 (Beckman Coulter, 카탈로그 번호 I113613), CD34 APC (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 345804), CD3 APC-Cy7 (BD Pharmingen, 카탈로그 번호 341110)이었다.

[0500] [표 9]

다중 매개변수 유세포 분석법 분석에 의한 TSA 발현의 검출을 위한 패널

	FITC	PE	PC5	PC7	APC	APCCY7	V45-	V500
1	CD69	CD63	CD34	CD38	CD33	CD45	CD7	HLA-DR
2	CD109	CD151	CD33	CD117	CD84	CD34	CD38	CD45
3	CD69	CD19	CD7	CD38	CD34	CD3	CD72	CD45
4	CD69	(CD4)	CD7	CD34	CD84	CD45	CD38	CD8

[0501]

[0502] 표 9는 급성 백혈병 또는 골수성 신생물의 유세포 분석법에 의한 진단 시 면역표현형을 결정하기 위한 항체 진단 패널을 나타낸다.

[0503] 항체 검증을 위한 세포내 염색.

[0504] 상기에 열거된 모든 1차 항체를 지침에서 제안된 바와 같이 PBMC의 세포내 염색을 수행하여 먼저 검증하였다.

[0505] 약술하면, 세포(6×10^5 개)를 포스파타제 완충 식염수(PBS) 중 4% 파라포름알데히드로 실온에서 15분 동안 고정시킨 다음 PBS로 3회 행구었다. 다음으로, 이것을 PBS 중 0.1% TWEEN20으로 20분 동안 투과처리하고 PBS 중 3% 소 혈청 알부민(BSA)으로 30분 동안 차단시켰다. 투과처리된 세포를 Fc Receptor Blocking(Miltenyi)과 함께 1차 항체로 30분 동안 염색한 다음 2차 항체와 함께 20분 동안 인큐베이션하였다.

[0506] 세포 표면 염색.

[0507] 1차 항체를 AML 및 기타 암 세포주, PBMC 및 제대혈 유래 CD34 양성 세포의 표면에서의 결합에 대해 시험하였다. 세포(3×10^5 개)를 PBS 중 3% BSA에서 차단하고 Fc Receptor Blocking과 함께 1차 항체로 20분 동안 염색하였다. PBS로 세척한 후 20분 동안 2차 항체로 세포를 염색하였다.

[0508] PBMC 하위집단의 경우, TSA에 대한 항체를 다음 항-인간 항체와 함께 20분 동안 사용하였다: CD3-APC(Beckam Coulter, 프랑스 마셀리 소재), CD19-PE(Beckam Coulter), CD33-PC5(Beckam Coulter). 다음으로, 세포를 20분 동안 2차 항체로 염색하였다. 세포를 CytoFLEX(Beckam Coulter) 및 Flow Jo Software(version 9.7, TreeStar Inc.)를 사용하여 분석하였다.

[0509] 면역형광.

[0510] 이러한 분석에 사용된 1차 항체는 eBioscience, Abcam, 및 BD 제품이고; 2차 항체는 염소-항 마우스 IgG Alexa488 항체(Life Technologies)이다. 세포(3×10^5 개)를 피브로넥틴(40 ug/ml)(Corning)으로 사전 코팅된 배양 챔버 슬라이드(FALCON, 미국 뉴욕주 빅플랫츠 소재)의 바닥에 37° C에서 2시간 동안 시딩하였다. 이 인큐베이션 시간 후, 지침에 따라 세포를 특정 막 염료인 MemBrite Fix 염료(Biotium)로 37° C에서 5분 동안 염색하였다. 세포를 PBS 중 4% 포름알데히드로 15분 동안 고정시키고, 세척 후 PBS 중 3% BSA로 30분 동안 차단시켰다. 포화 후, 세포를 Fc Receptor Blocking과 함께 4° C에서 하룻밤 동안 1차 항체로 염색한 다음 실온에서 1시간 동안 2차 항체로 염색하였다. 세포를 Zeiss 2.6 레이저 스캐닝 현미경으로 영상화하였다. 영상을 Image J win 32 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0511] 4.2. 실시예 2: AML-TSA를 표적으로 하는 치료 방법

[0512] 6개의 AML-TSA(즉, CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109)를 실시예 1에 기재된 대로 시험하였고, i) 원발성 골수성 신생물, 급성 백혈병 및 급성 골수성 백혈병, ii) CD34+ CD38+ HSPC의 발현 부족/낮음, iii) 종양발생과의 연관성, iv) AML 세포주에서의 발현을 기초로 선택하였다.

[0513] TSA 중 하나를 표적으로 하는 요법의 개발을 위해, 각각의 표적에 대한 2개 내지 4개의 상이한 상업용 항체를 시험하여 각각의 TSA에 대한 최상의 단일쇄 가변 단편(ScFv)을 설계하였다. 각각의 항체에 대해 AML 세포주에 대한 유세포 분석법 결과를 도 8에 제공한다.

- [0514] 추가로, TSA에 대한 신규한 항체를 당업계에 알려진 방법, 예를 들어 면역원 제조, 면역화, 하이브리도마 생산, 스크리닝 및 정제를 포함하는 절차 또는 파지 디스플레이 나이프 또는 면역화 항체 라이브러리의 패닝 절차를 사용하여 생성하였다. 신규한 항체를 또한 TSA 표적에 대한 결합 친화도 및 특이성에 대해서 시험한다.
- [0515] 결합 친화도 및 특이성을 고려하여 선택된 항체를 ABP-약물 접합체 및 CAR-T 세포 개발에 사용한다. 선택된 항체를 세포독성체에 접합시킴으로써 ABP-약물 접합체를 생성시킨다. 선택된 항체의 항원 결합 도메인을 세포의 도메인으로 사용하여 CAR을 생성시킨다. 항원 결합 도메인, 막관통 도메인, 신호전달 도메인 및 선택적으로 적어도 하나의 공자극 도메인을 포함하는 CAR을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 생성시킨다. 폴리뉴클레오티드를 T 세포 또는 NK 세포에 형질주입하여 CAR-T 세포 또는 CAR-NK 세포를 생성시킨다.
- [0516] ABP, ABP-약물 접합체 및 CAR-T 세포 각각을 AML 세포주뿐만 아니라 원발성 소아 AML 샘플을 사용하여 시험관내에서 시험한다. ABP, ABP-약물 접합체 또는 CAR-T 세포를 AML 세포주 또는 원발성 AML 세포의 세포 배양에 적용하면 암 세포에 대해 특이적으로 세포독성 효과를 유도한다.
- [0517] ABP-약물 접합체 및 CAR-T 세포를 또한 AML 세포주(동질성 인간 질환 모델)를 정맥내 주사한 NSG(NOD/scid IL-2Rgnull) 마우스를 사용하고 환자의 유래 이종이식편(PDX) 동물 모델을 사용하여 생체내에서 시험한다. 말초 혈액, 골수 또는 비장에서 ABP, ABP-약물 접합체 또는 CAR-T 세포 투여 후 동물 모델에서 암 세포가 감소하였다.
- [0518] 4.3. 실시예 3: CAR-T 세포를 사용한 AML-TSA를 표적으로 하는 치료 방법
- [0519] *생성된 CAR 작제물의 사용에 기초한 T 세포-면역요법 접근법을 위한 표적으로 선택된 TSA(CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 및 CD109)의 사용에 대한 검증.*
- [0520] 6개의 중앙 관련 항원, 즉 CD69, CD63, CD151, CD84, CD109 및 CD72가 소아 급성 백혈병 및 골수성 장애와 고 유하게 연관된 것으로 확인되었다. CD69 및 CD84 항원을 시험관내 및 생체내에서 특징구명하였고, 진단 및 재발 시 수집된 급성 골수성 백혈병(AML) 1차 샘플에 대해 매우 특이적인 것으로 입증되었다.
- [0521] 이 데이터에 기초하여, AML 아세포에서 CD69 또는 CD84를 인식하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 생성하기 위해서 파지 디스플레이에 의해 11개의 신규한 단일쇄 가변 단편(ScFv) 서열(A1, C1, F1, G1, C2, F2, H2, H3, F12, B8 및 B11)을 개발하였다. CD72 항원은 급성 림프구성 백혈병(ALL)에 매우 특이적인 것으로 나타났으며, CD19 마커가 자주 손실되는 CD19-지향 면역요법으로 치료받은 ALL 환자의 진단 가능성이 매우 높다.
- [0522] **신규한 CD84 및 CD69 CAR-T 세포의 설계 및 제조**
- [0523] 2개의 신규한 항원, CD84 및 CD69를 AML 면역요법의 잠재적 표적으로 우선순위를 지정하였다. 파지 디스플레이를 사용하여 최대 수십억 개의 항체 표적을 함유하는 대규모 조합 라이브러리에서 두 항원에 대한 고친화도 항원 결합체를 찾았다. 방법은 높은 친화도로 파지의 집단을 풍부하게 한 후 라이브러리를 본 발명자들의 항원에 노출시키고, 그 다음 최고 결합 친화도를 갖는 것만을 증폭시킴으로써 다른 것에 비해 본 발명자들의 표적에 대한 높은 친화도 결합을 갖는 파지 집단 내의 파지를 농축하기 위한 반복적인 공정으로서 6회 라운드 의 패닝을 고려하였다. 이러한 정성적 선택 공정은 CD69의 경우 87개의 클론 및 CD84의 경우 6개의 클론을 식별하였다. 정량적 면역검정에 의해서 항체-항원 상호작용을 보다 정확하게 평가할 수 있는 ELISA 기술을 사용한 검증은 8개 및 2개의 ScFv 서열이 각각 CD69 및 CD84에 대한 좋은 후보임을 확인해 주었다. 유전자 합성은 10개의 신규한 ScFv 유전자를 생성시켰고, 이 유전자를 제타(CD3 ζ) 신호 전달 도메인과 조합하여 CD28 H/TM 및 4-1BB 공자극 도메인을 포함하는 3세대 키메라 항원 작제물(CAR)에 pUC57 플라스미드 내에서 클로닝하였다. 제한 효소 기술에 의해서, CAR을 절단하고 고역가 렌티바이러스 벡터(LV) 생산을 위한 3세대 렌티바이러스 전달 플라스미드에 붙여넣었다(도 13). 그런 다음 작업흐름은 건강한 공여자 T 세포의 단리, 그 다음 효율적인 활성화, CAR 작제물의 활성화된 T 세포로의 유전자 전달, CAR-T 세포 확장, 단독 또는 AML 세포주와의 공배양 후 최종 세포 생성물의 표현형 분석 및 분석을 포함하였다.
- [0524] CAR-T 세포를 인간 나이프 항원 결합 단편(Fab) 파지 라이브러리 내에서 식별된 4개의 서로 상이한 특정 ScFv, 즉 CD84를 인식하는 14722-P1-F12 및 14722-P1-B8, 및 CD69를 인식하는 14721-P1-H3 및 14721-P1-G1로 제조하였다. 4개의 CAR 작제물의 뉴클레오티드(서열번호 24 내지 34) 및 아미노산 서열(서열번호 35 내지 44)을 도 27에 제공한다. 바이러스 형질도입 이전에, CD4 및 CD8 마이크로비드를 사용한 자기 농축을 통해 건강한 공여자로부터 수집한 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터 T 세포를 단리한 후 T Cell TransAct™ 배지를 사용하여 활성화하였다. 그런 다음, TexMACS™에서 48시간 동안 확장시킨 후, T 세포에 IL-7 및 IL-15 보충 배지에서 10의 감염 다중도(MOI: multiplicity of infection)로 LV를 암호화하는 CAR을 형질도입하였다. 형질도입 24시간 후, 벡터

를 세척하고 CAR-T 세포를 14일 동안 확장시켰다(도 14). 형질도입 효율을 디지털 액적 중합효소 연쇄 반응(ddPCR)으로 측정하고 세포당 벡터 카피 수(VCN)로 표현하였고; 평균 VCN은 제조된 모든 CAR-T 세포에서 2.5 내지 33.7 범위였으며, 상이한 CAR-T 생성물 간의 VCN에는 유의한 차이가 없었다(도 15). 모의-형질도입된 T 세포(빈 CAR)를 대조군으로 사용하였다.

[0525] 시험관내 및 생체내에서 새로 제조된 CD84 및 CD69 CAR-T 세포의 효능 및 특이성을 적절하게 시험하기 위해서, AML 세포주를 먼저 유세포 분석법으로 CD84 및 CD69 세포막 발현에 대해 스크리닝하였다. HL-60 및 SHI-1은 두 항원 모두 표적 세포에서 높은 수준으로 발현되었으며(도 16); MV4-11 및 MOLM-13은 CD84만 발현하는 반면, Kasumi-1, U937 및 K562 세포는 CD69만 발현하여(도 16), 이는 각각 CD69 또는 CD84에 대한 대조군 세포주로 적합하다.

[0526] CAR 설계는 CD84 및 CD69 CAR-T 세포의 확장, 생존률 및 표현형에 영향을 미치지 않는다.

[0527] 확장 14일 완료(CAR-T 세포 제조 공정 제17 일에 해당) 시에 제조된 CAR-T 세포를 계수하였고, 2 내지 20배 범위의 확장률을 나타내었으며(도 17), 주로 시작 공여자 PBMC로 인해 변동성이 매우 컸다(도 18a). T 세포는 생존 가능하였고, CD8⁺ 세포에 비해 CD4⁺가 풍부하였으며(도 18b), 예상된 바와 같이 대부분 나이브 및 줄기세포 기억(T_n + T_{scm}, CD197[CCR7]⁺CD45RO⁻), 및 중추 기억(T_{cm}, CD197[CCR7]⁺CD45RO⁺) T 세포를 포함하였다(도 19a 및 도 19b). 확장 시, CD84 및 CD69 CAR-T 세포는 배양 조건에 반응한 CD25, CD154, CD107a 및 CD137뿐만 아니라 CD366, CD223 및 CD279의 상향조절에서 나타난 바와 같이 빈 CAR-T 세포와 동일한 정도로 활성화 및 고갈을 모두 나타내었다. 동일한 결과가 대조군 T 세포(빈 CAR)에서 관찰되었으며, 이는 CAR 카세트가 T 세포 기능을 변경하지 않았음을 확인시켜 주는 점에 주목할 가치가 있다(도 20a 및 도 20b).

[0528] 시험관내에서 CD84 및 CD69 CAR-T 세포는 효과적인 항종양 용해 활성을 갖는다.

[0529] 새로 생성된 CD84 및 CD69 CAR-T 세포의 활성을 시험하기 위해, CAR-T 세포를 배지 단독으로 유지하거나 항원을 발현하는 표적 AML 세포주와 공배양하여 유지시켰다. 시험된 4개의 ScFv 서열에 의해 표적 세포주에 대해 유일한 시험관내 항종양 활성이 측정되었는데, 그 범위는 HL-60에서는 10 내지 80%, SHI-2 세포에서는 50 내지 90%였다. 이러한 결과는 1) CD33⁺ 사멸 세포(AnnexinV⁺ 및/또는 7AAD⁺, 도 21)의 빈도, 2) 용해 효력(도 22) 및 3) 루시퍼라제 형질도입된 AML 세포의 생물발광 신호(도 23)를 평가하여 추가로 확인된다. 활성화된 CAR-T 세포의 지속성을 또한 시험관 내에서 최대 48시간 동안 세포 계수를 통해 모니터링하였다. CAR-T 세포의 활성은 T 림프구의 증식 증가(검은색 사각형)와 동시에 표적 AML 세포 수의 감소(흰색 사각형, 도 24)를 특징으로 한다.

[0530] CD84 및 CD69 CAR-T 세포는 CD34⁺ 조혈 줄기 및 전구 세포(HSPC)에 대해 독성을 나타내지 않는다.

[0531] CD34⁺ 조혈 줄기 및 전구 세포(HSPC)에 대한 CD84 및 CD69 CAR-T 세포의 잠재적인 표적외 활성을 1:1 효과기:표적 비율(E:T)의 표준 콜로니 형성 단위(CFU) 분석에서 조사하였다. CD84 및 CD69 CAR-T 작제물 둘 다 CD34⁺ HSPC에 의해 형성된 CFU 수의 유의한 감소도 CD34⁺ 생존률의 감소도 유도하지 않았기 때문에 CD34⁺ 세포에 유의한 효과를 생성하지 않았다(도 25a 및 도 25b).

[0532] CD84 및 CD69 CAR을 발현하는 T 세포는 생체내에서 AML 세포 표적을 인식하고 사멸시킨다.

[0533] 생체내에서 CAR-T 세포 활성을 시험하기 위해, CD84 및 CD69를 표적으로 하는 CAR-T 세포를 생산하고 이를 표적 AML 세포주가 이식된 NOD/SCID 감마(NSG) 마우스에 주입하였다. AML 세포주를 비침습적 생물발광 영상화(BLI)를 위해 루시퍼라제를 발현하도록 조작하였다. 약술하면, 마우스에게 0.5x10⁶개의 AML 세포/마우스를 꼬리 정맥 주사(제1 일)하고, 그 다음(제3 일)에 1.5x10⁶개의 CAR-T 세포 또는 모의 형질도입된 T 세포(MOI 10개의 빈 CAR/마우스; 시험된 조건에 따라 n = 6 내지 8)를 주사했하였다. B8 및 F12(CD84) 및 G1 및 H3(CD69) CAR-T 세포로 처리된 마우스는 AML 시험감염 후 제14 일에 이미 BLI로 평가한 백혈병 부담의 통계적으로 유의한 감소를 경험하였으며, 이는 시간 경과에 따라 훨씬 더 명확하였다(제23 일 및 제35 일)(도 26a, 도 26b, 도 26c).

[0534] 재료 및 방법

[0535] 인간 세포주

[0536] HL-60 및 SHI-1 AML 세포주를 TSA 스크리닝을 위한 표적 세포로 사용하였다. 이들 세포주를 10% 소 태아 혈청

(FBS; Life Technologies; 10270106), 1% 페니실린-스트렙토마이신(P/S, 10000 U/mL, Life Technologies; 15140148) 및 1% L-글루타민(200 mM, ThermoFisher; 25030024)이 보충된 RPMI(Life Technologies; 11875093)에서 성장시키되, SHI-1 세포주의 경우에는 10% FBS 및 1% P/S가 보충된 DMEM(Life Technologies; 41965039)에서 배양하였다. HEK293T는 10% FBS, 1% P/S 및 1% L-글루타민이 보충된 IMDM(Euroclone; ECB2072L)에서 성장시켰다. 모든 세포를 5% CO₂가 있는 가슴 인큐베이터에서 37° C로 배양하였다.

[0537] **클로닝**

[0538] CAR 카세트(1506 bp)를 pUC57 벡터(ProteoGenix SA에 의해 합성)로부터 인간 포스포글리세레이트 키나제 프로모터(hPGK)의 제어 하에 3세대 LV 전달 플라스미드로 클로닝하였다. One Shot TOP10 화학적 적격 이. 콜라이(*E. coli*)(ThermoFisher, 미국 메사추세츠주 월섬 소재)를 형질전환시키고 Plasmid DNA Maxiprep Kit(Termo Fisher Scientific, K210017)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 절차를 BamHI 및 SalI 효소를 사용한 소화 및 아가로스 겔 전기영동에 의해 제어하였다. 골격에 카세트가 올바르게 삽입되었는지 확인하기 위해 플라스미드의 Sanger 서열분석을 수행하였다.

[0539] **PBMC 및 T 세포 확장으로부터의 CD4⁺ 및 CD8⁺ 단리**

[0540] PBMC를 Lymphoprep(StemCell technologies; 07861)을 사용한 밀도 구배 원심분리에 의해 건강한 공여자로부터 단리시켰다. PBMC로부터 CD4⁺ 및 CD8⁺ T 세포를 제조업체의 지침에 따라 CD4 및 CD8 MicroBeads(Miltenyi Biotec, 각각 130-045-101 및 130-045-201)와 함께 autoMACS 기기(Miltenyi Biotec, 독일 베르기슈 글라트바흐 소재)를 사용하여 자기적으로 단리시켰다. 그 다음 단리된 T 세포를 1% P/S를 함유하고 제조합 인간 IL-7(500 IU/ml) 및 IL-15(84 IU/ml)(Miltenyi Biotec; 각각 130-095-362 및 130-095-764)가 보충된 TexMACS 배지(Miltenyi Biotec, 130-097-196)에서 TransAct(Miltenyi Biotec, 130-111-160)를 사용하여 시험관내 확장을 위해 제1 일에 활성화시켰다. 제4 일에 세포를 TransAct 및 렌티바이러스로부터 세척한 다음 IL-7 및 IL-15와 함께 mL당 1 내지 2x10⁶개 세포로 TexMACS에서 유지시켰다.

[0541] **인간 T 세포의 렌티바이러스 벡터 생산 및 형질도입**

[0542] LV를 이전에 기재된 바와 같이 HEK293T 패키징 세포주의 일시적 형질주입을 통해 생성시켰다(문헌[Langford-Smith et al., 2012]). 약술하면, 70% 컨플루언트 세포에 Gag/Pol(III gen), Env 및 Rev 패키징 플라스미드, pAdvantage 플라스미드(pADV) 및 카세트가 있는 전달 벡터 플라스미드를 공동 형질주입시켰다. 형질주입 48시간 후, 렌티바이러스 상층액을 수집하고, 초원심분리하고, 분취하고, -65° C 이하에 보관하였다.

[0543] T 세포에 제3 일에 0.01 mg/ml Vectofusin-1(Miltenyi Biotec; 130-111-163)을 사용하여 MOI 10에서 LV를 형질도입하였다. 형질도입 16시간 후, 세포를 LV 및 TransACT로부터 세척하였다. 형질도입 효율을 평가하기 위해 세포당 VCN을 측정하였다. 형질도입 후 14일 후에 Dneasy Blood & Tissue Kit(Qiagen; 69504)를 사용하여 형질도입된 T 세포의 전체 게놈 DNA를 추출하였다. 세포당 VCN을 결정하기 위해 dUTP가 없는 프로브용 ddPCR Supermix(Bio-Rad; 1863024) 및 표적 및 참조 게놈에 대한 프라이머-프로브 세트(ddPCR™ CNV Assay [FAM] 10031277; ddPCR™ CNV Assay [HEX] 10031244)를 함유하는 반응 혼합물과 함께 ddPCR을 사용하였다. Automated Droplet Generator(Bio-Rad)로 액적을 만들고 QX200 액적 판독기(Bio-Rad)로 판독하였다. VCN을 QuantaSoft 액적 판독기 소프트웨어로 분석하였고, 참조 유전자 농도에 대한 표적 유전자 농도의 비율에 참조 게놈의 참조 유전자 카피 수를 곱하여 결정하였다.

[0544] **유세포 분석법에 의한 활성화, 고갈 및 분화 마커**

[0545] 세포를 형광색소-접합된 1차 항체 및 이소형 대조군으로 실온에서 15분 동안 염색하였다. 염색된 세포를 세척하고 FACSCelesta™ 세포 분석기(BD Biosciences)를 사용하여 즉시 분석하였다. 다음 항체를 사용하였다: CD3(PE-Vio615, Miltenyi Biotec; 130-114-520), CD4(VioGreen, Miltenyi Biotec; 130-113-230), CD8(APC, Miltenyi Biotec; 130-110-681), CD45(VioBlue, Miltenyi Biotec; 130-110-637), CD34(PE, Miltenyi Biotec; 130-124-456), CD38(APC, Miltenyi Biotec; 130-123-852), CD197(CCR7)(VioBlue, Miltenyi Biotec; 130-117-353), CD45RO(APC, Miltenyi Biotec; 130-113-556), CD223(VioBlue, Miltenyi Biotec; 130-118-549), CD279(PE, Miltenyi Biotec; 130-120-385), CD366(APC, Miltenyi Biotec; 130-119-781), CD154(VioBlue, Miltenyi Biotec; 130-116-615), CD25(PE, Miltenyi Biotec; 130-114-541), CD137(APC, Miltenyi Biotec; 130-110-764), CD69(PE, Miltenyi Biotec; 130-112-613), CD84(APC, Biolegend; 326010) CD107a(PE, Miltenyi Biotec; 130-111-621), 및 CD33(FITC, Miltenyi Biotec; 130-111-018). FlowJo 소프트웨어(BD Biosciences,

v10)를 사용하여 분석을 수행하였다.

[0546] **시험관내 세포독성 검정**

[0547] AML 표적 세포주(항원 양성)를 CAR-T 세포 또는 형질도입되지 않은 T 세포와 함께 T 세포 확장의 종료 후(제17일)에 E:T 비율 1:1로 48시간 동안 공배양하여 세포독성 검정을 수행하였다. 공배양된 세포를 Annexin V-PE(Miltenyi Biotec; 130-118-363) 및 7-AAD 염색 용액(Miltenyi Biotec; 130-11-568)으로 염색하고 FACSCelesta™ 세포 분석기 및 FlowJo 소프트웨어를 사용하여 유세포 분석법으로 분석하였다. 세포 용해 백분율을 다음 식을 사용하여 계산하였다:

[0548]
$$\text{용해 \%} = 100 - \frac{\text{CAR T 세포와의 공배양물에서 살아있는 AML 세포의 } N}{\text{단독으로 배양된 살아있는 AML 세포의 } N} * 100$$

[0549] 대안적으로, 루시퍼라제-형질도입된 AML 세포의 생물발광을 CAR-T 세포와의 공배양으로부터 48시간 후에 분석하였다. 약술하면, 세포를 원심분리하고, 50 µl의 PBS 1X에 재현탁하고, 그 다음 XenoLight D-루시퍼린 반딧불이(PBS 중 15 mg/ml, Perkin Elmer, 미국 메사추세츠주 윌캡 소재)와 함께 10분 동안 인큐베이션하였다. 루시퍼라제 활성을 Spark - Tecan 다중 웰 플레이트 판독기(Tecan Group Ltd., 스위스 만네도르프 소재)로 측정하였고, 데이터 신호 감소를 생물발광 영상화(BLI)에 의해 평가된 AML 세포 용해의 백분율로 보고한다.

[0550] **콜로니 형성 검정**

[0551] 1:1 비율로 6시간 동안 공배양한 후 총 2×10^3 개의 1차 CD34⁺ 세포(건강한 골수 또는 체대혈에서 단리)를 24웰 플레이트에 MethoCult™(H4534, Stemcell Technologies, (이탈리아 메다 MB 소재) 500 µl로 시딩하고, 37° C에서 인큐베이션하였다. 각각의 공배양에 대해 4개의 복제물을 플레이트링하였다. 시딩 14일 후에 행크스 중의 3-[4,5-디메틸티아졸-2-일]-2,5-디페닐테트라졸륨 브로마이드(MTT, Sigma-Aldrich-Merck)의 1:6 용액의 적절한 부피를 반고체 배지에 첨가하였다. 카메라가 장착된 광학 현미경으로 영상을 획득하고 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 콜로니를 계산하였다.

[0552] **NSG 마우스에서의 생체내 실험**

[0553] 동물과 관련된 절차 및 이의 관리는 국내 및 국제 법률 및 정책(EEC Council Directive 86/609, OJ L 358, 12 December 1987)을 준수하는 제도적 지침 및 "ARRIVE" 지침(동물 생체내 실험 보고 연구에서)에 따라서 수행하였다. 책임 기관 승인: 131/2022-PR. NSG 마우스(NOD.Cg-Prkdcscid1I2rgtm1Wjl/SzJ, 4 내지 5주령 암컷, 20 내지 25 g/마우스, 최대 5마리 동물/케이지)에게 0.75×10^6 개의 SHI-1-LUC(루시퍼라제 유전자가 형질도입됨) 세포를 정맥내(꼬리 정맥) 주사하였다. AML 주사로부터 2일 후, 대조군으로서 1.5×10^6 개의 CAR-T 또는 형질도입되지 않은/모의 형질도입된 T 세포를 표적:효과기 비율 1:3으로 정맥내 주사하여 마우스를 처리하였다. 측정(Xenogen IVIS Spectrum bioluminescence/optical imaging system, Xenogen Corporation, 미국 캘리포니아주 알라메다 소재) 10분 전 XenoLight D-루시퍼린 반딧불이(PBS 중 15 mg/ml, Perkin Elmer)를 복강내 주사하여, 생물발광을 모니터링하여 종양 성장을 확인하였다.

[0554] **통계 분석**

[0555] 평균 분포에 따라 스튜던트 t-검정 또는 Wilcoxon 비모수 검정을 통해 평균의 유의한 차이를 시험하였다. 2개 초과인 군/조건을 비교하는 경우 Tukey의 다중 비교 검정을 사용한 일원 다중 비교 ANOVA를 사용하였다. 그래프 및 관련 통계 분석은 GraphPad Prism 8을 사용하여 생성하였다. 모든 데이터를 평균 ± 평균의 표준 오차(SEM)로 표시한다. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001, 및 ****P<0.0001 값은 통계적으로 유의하다.

[0556] **결과**

[0557] 본원에 제시된 데이터는 다음을 확인해 준다:

[0558] 골수성 및 림프성 급성 백혈병의 진단 및 재발 시에 수집된 다수의 1차 사례에서 6개 항원 모두의 높은 발현은, 건강한 재생 골수 세포 및 조혈 줄기세포에 대한 매우 낮은 발현/널(null) 발현과 연관됨; 그리고

[0559] 시험관내 실험 및 AML 세포주가 생착된 무린 이종이식된 모두에서 CD69 및 CD84를 인식하는 신규한 ScFv(들)로 생성된 CAR-T 세포에 의한 AML 아세포의 특정 용해 활성.

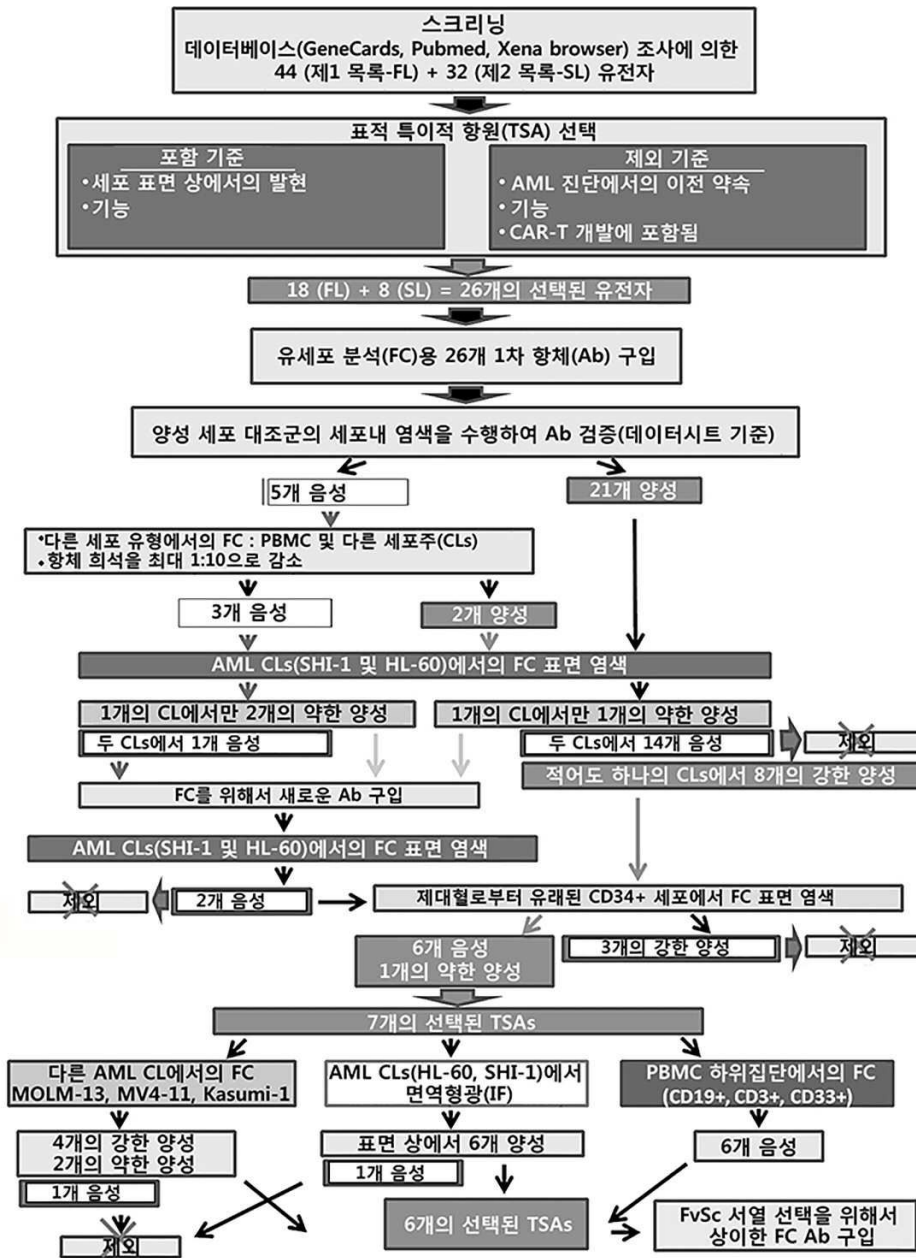
[0560] 이 데이터는 골수성 및 림프성 백혈병에 대한 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 또는 CD109를 기반으로 한 면역

요법 및 진단 접근법의 개발을 뒷받침한다.

- [0561] **제브라피쉬에서 CAR-T 결합 및 아세포 용해의 검증**
- [0562] TSA에 결합하는 scFv의 효능을 시험한다. 높은 수준의 TSA를 발현하는 GFP+ AML 세포주(뿐만 아니라 대조군으로서 TSA를 발현하지 않는 GFP+ 세포주)를 mCherry+ CAR-T 또는 대조군 T 세포와 1:1 비율로 혼합된 용액(이하 "혼합 세포"로 명명됨)으로 수정 후 48시간에 제브라피쉬 배아에 주사한다.
- [0563] 이식된 동물에서, 순환하는 형광 GFP/mCherry 양성 세포의 수뿐만 아니라 주사 후 1, 5, 24 및 72시간에 결합 복합체를 나타내는 황색-병합 복합체를, 모든 동물 코호트(각각 대략 30개의 배아)에서 형광 현미경 및 ImageJ 소프트웨어를 통해 평가하여 AML과 CAR T 세포 사이의 결합을 결정한다.
- [0564] 다음으로, scFvs 특이성 및 사멸 효능을 평가한다. 이중이식된 CAR-T 세포의 증식/사멸 및 배아에서 AML 아세포의 감소를 평가한다.
- [0565] 군당 25개의 배아를 회생시켜, 주사 후 5시간 및 24시간에 유세포 분석법으로 GFP+ 및 mCherry+ 세포를 계산하였다. 리포터 발현 특이적 TSA-CAR T 세포와 대조 백터 간의 비교는 결합 후 발생하는 용해 효능을 나타낸다.
- [0566] **NSG 마우스에서 CAR T 검증 효능**
- [0567] *CAR T 결합 및 용해 효능*
- [0568] 높은 수준의 TSA를 발현하는 적어도 3개의 상이한 AML 세포주 및 대조군 TSA 음성 세포주를 Luc-발현 대조군 LV를 사용하여 고효율로 형질도입하여 루시페라제를 구성적으로 발현시키고 NOD-SCID 인터루킨-2 수용체 감마 널(NSG) 마우스에 주사하였다.
- [0569] 3일 후, 마우스를 1 내지 5×10^6 개의 항원 특이적 TSA 발현 CAR T 세포(n=8마리 동물) 또는 대조군 세포(n=3 내지 5마리 동물)로 정맥내 처리하였다. 이식 후 및 CAR-T 세포 주입에서 NSG 마우스에서 AML 세포주 성장을, D-루시페린 기질 용액(15 mg/ml)의 복강내 주사 후 루시페라제 생체내 발현을 영상화함으로써 모니터링한다.
- [0570] CAR-T 세포와 혼합된 AML 세포를 마우스에게 동시에 주사함으로써 Winn 검정을 수행한다.
- [0571] 이식 후 7, 14, 21 및 28일에 생체내 모니터링을 수행한다. CAR-T 세포 지속성을 2주마다 평가한다.
- [0572] AML 환자 유래 이중이식편(PDX)을 신규 AML의 진단 시 소아 환자의 골수에서 유래한 아세포를 사용하여 생성한다. 이전 실험에서 가장 유망한 CAR 후보를 AML-PDX에서 시험한다.
- [0573] **결과**
- [0574] 각각의 TSA에 대해 생성된 CAR-T 작제물은 표적 단백질 CD63, CD151, CD72, CD84, CD69 또는 CD109에 효율적이고 효과적으로 결합한다.
- [0575] 말초 혈액, 골수 또는 비장에서 TSA에 특이적인 CAR-T 세포를 투여한 후 동물 모델에서 암 세포가 감소한다.
- [0576] 5. 균등물 및 참조에 의한 포함
- [0577] 본 개시내용은 바람직한 실시형태 및 다양한 대안적인 실시형태를 참조하여 상세히 도시되고 설명되었지만, 당업자는 본 개시내용의 사상 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 형태 및 세부 사항의 다양한 변경이 이루어질 수 있음을 이해할 것이다.
- [0578] 본 명세서의 본문 내에 인용된 모든 참고문헌, 등록 특허 및 특허 출원은 모든 목적을 위해 전체 내용이 참조에 의해 포함된다.

도면

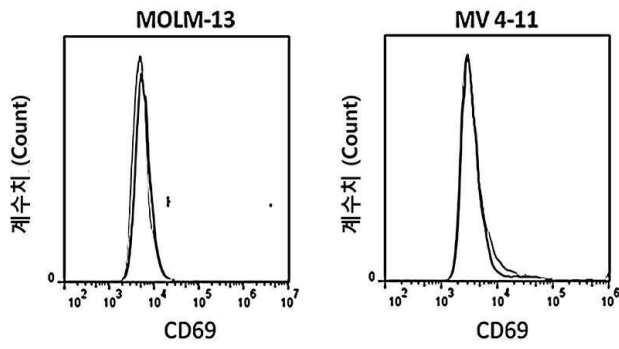
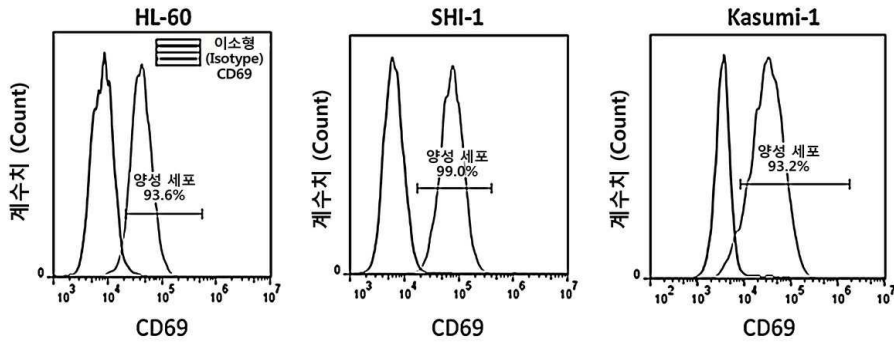
도면1



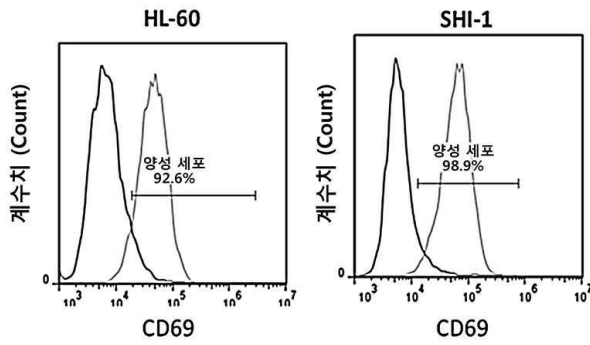
도면2a

AML 세포주

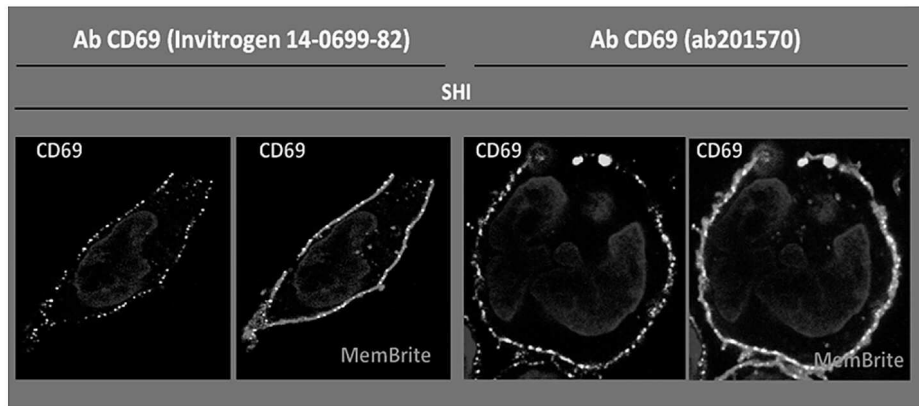
Ab CD69 (Invitrogen 14-0699-82)



Ab CD69 (ab201570)



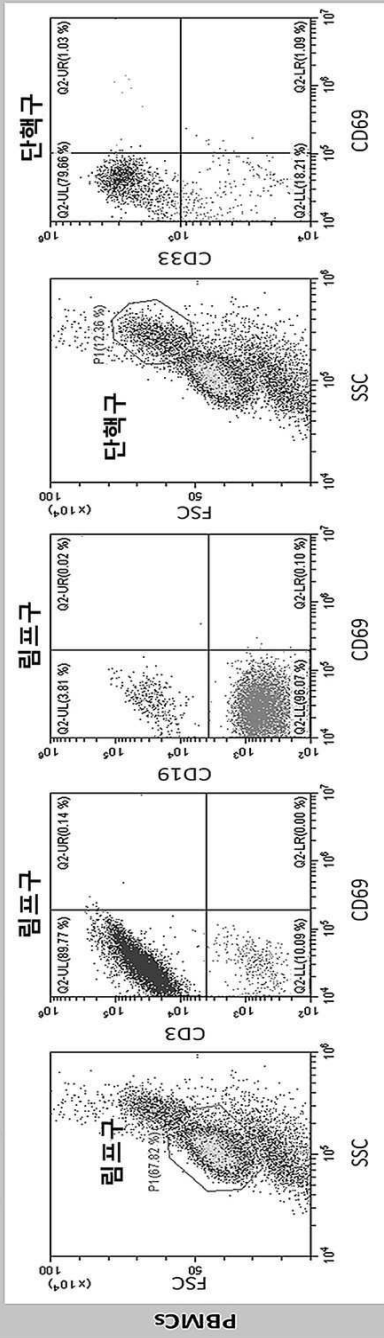
도면2b



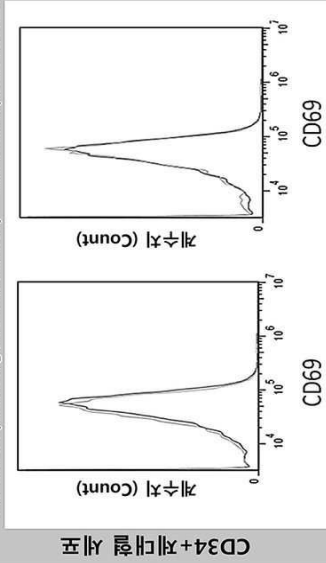
도면2c

건강한 조혈 세포

Ab CD69 (Invitrogen 14-0699-82)



Ab CD69 (Invitrogen14-0699-82) Ab CD69 (R&D MAB2359)

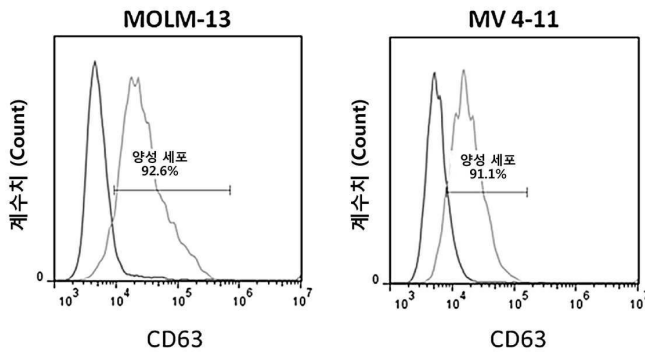
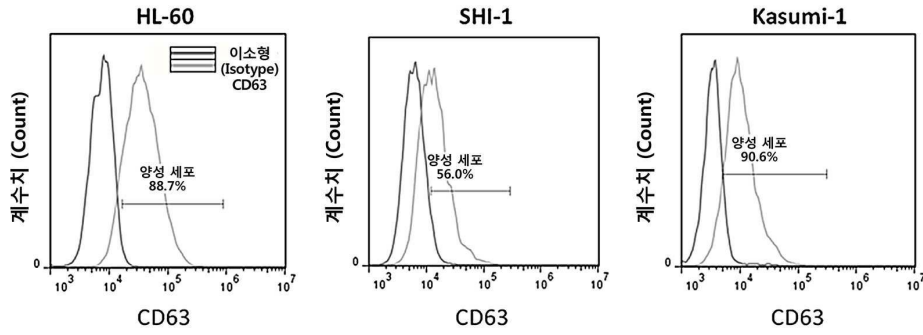


CD34+ 제대혈 세포

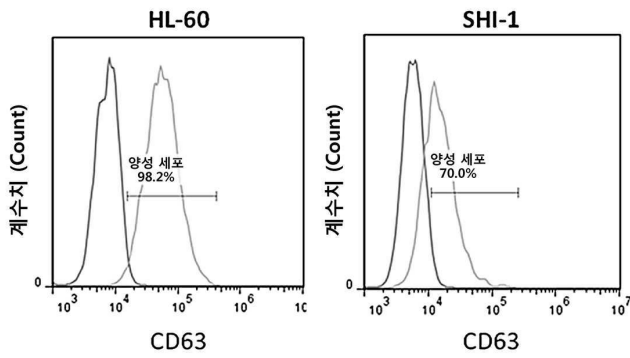
도면3a

AML 세포주

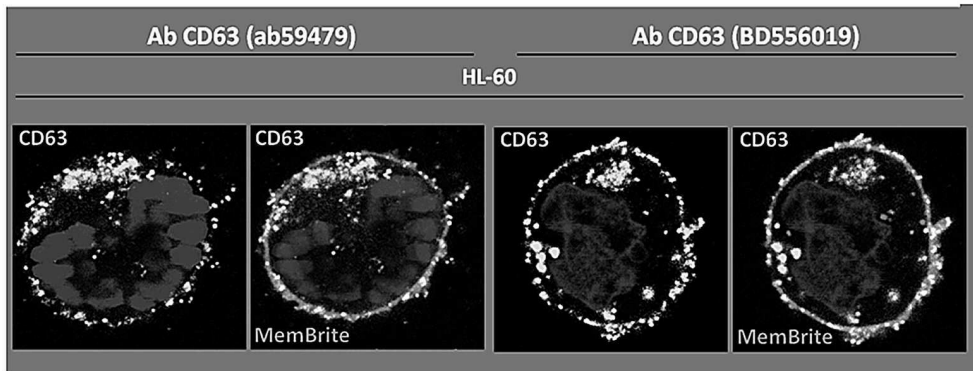
Ab CD63 (ab59479)



Ab CD63 (BD556019)



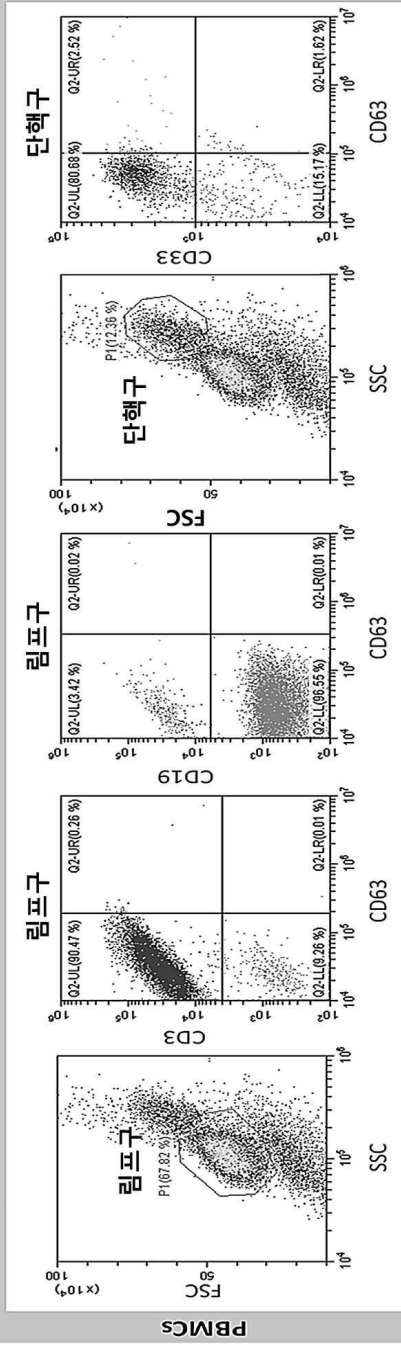
도면3b



도면3c

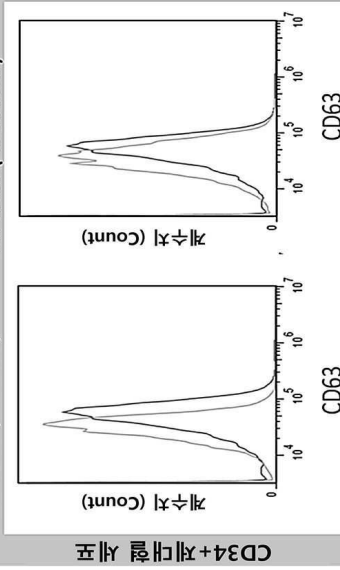
건강한 조혈 세포

Ab CD63 (ab59479)



Ab CD63 (ab59479)

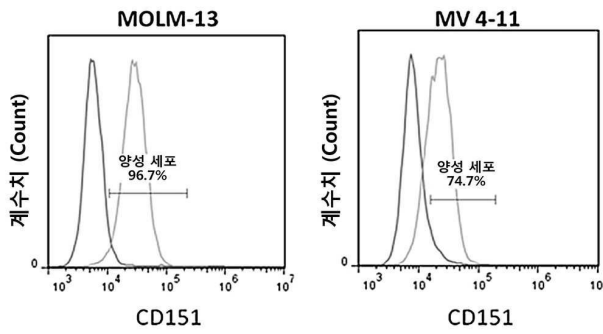
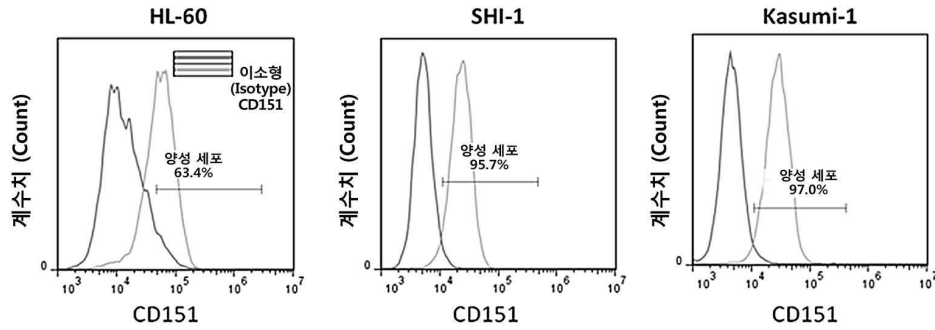
Ab CD63 (BD556019)



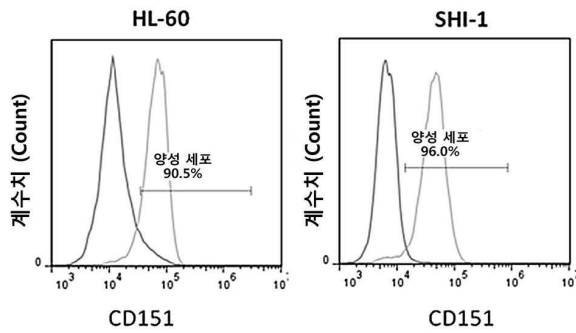
도면4a

AML 세포주

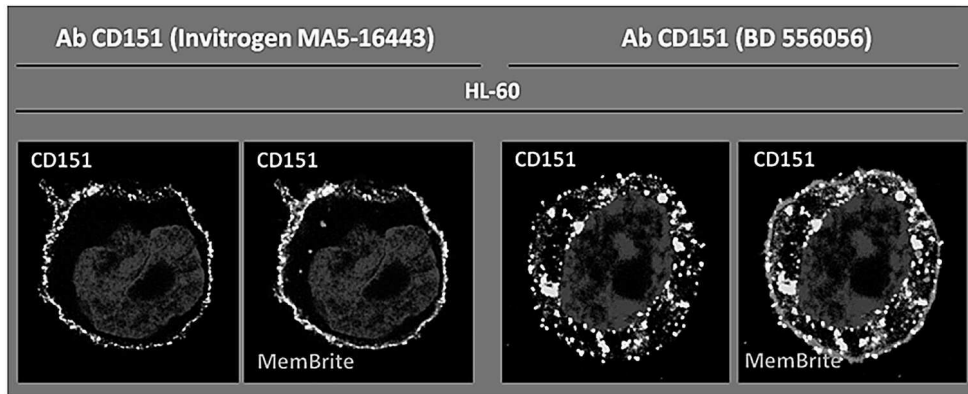
Ab CD151 (Invitrogen MA5-16443)



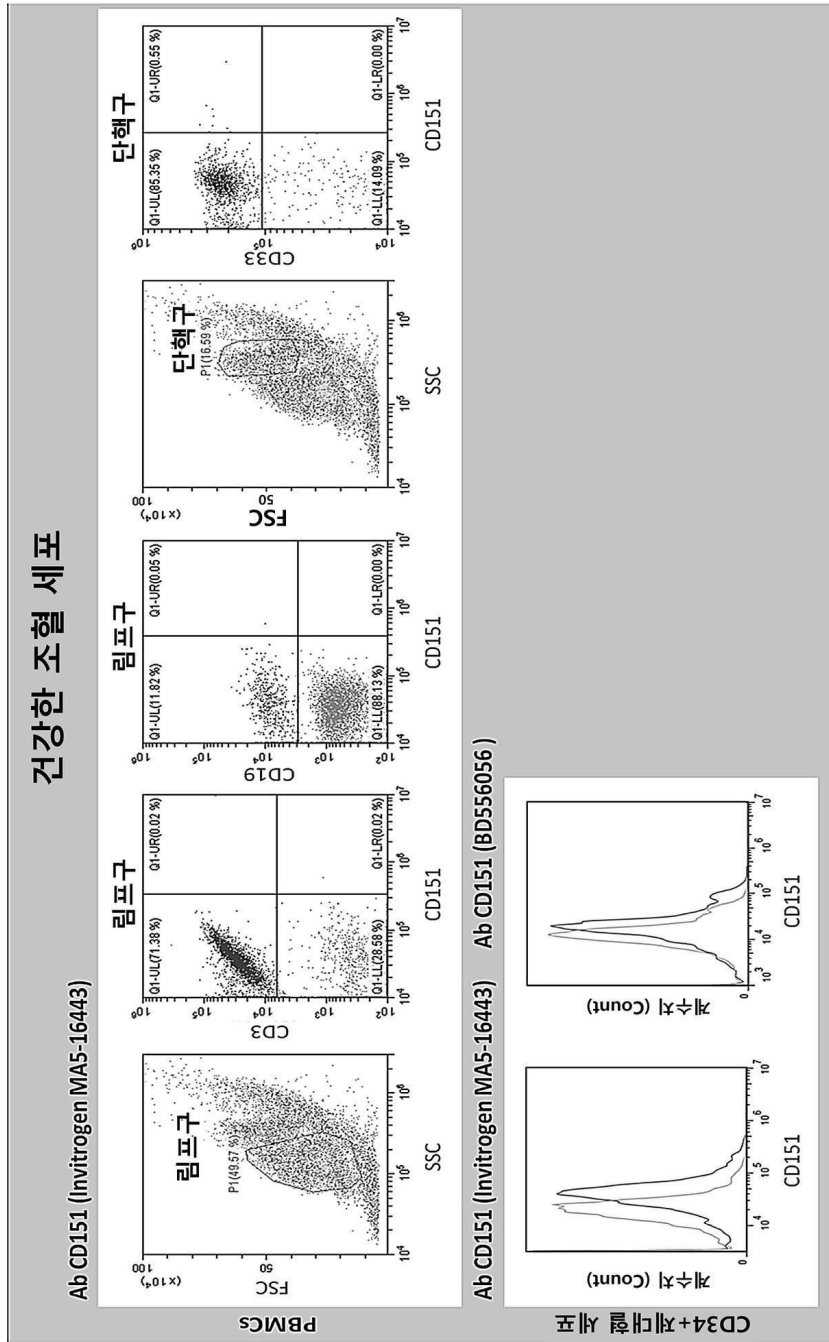
Ab CD151 (BD 556056)



도면4b



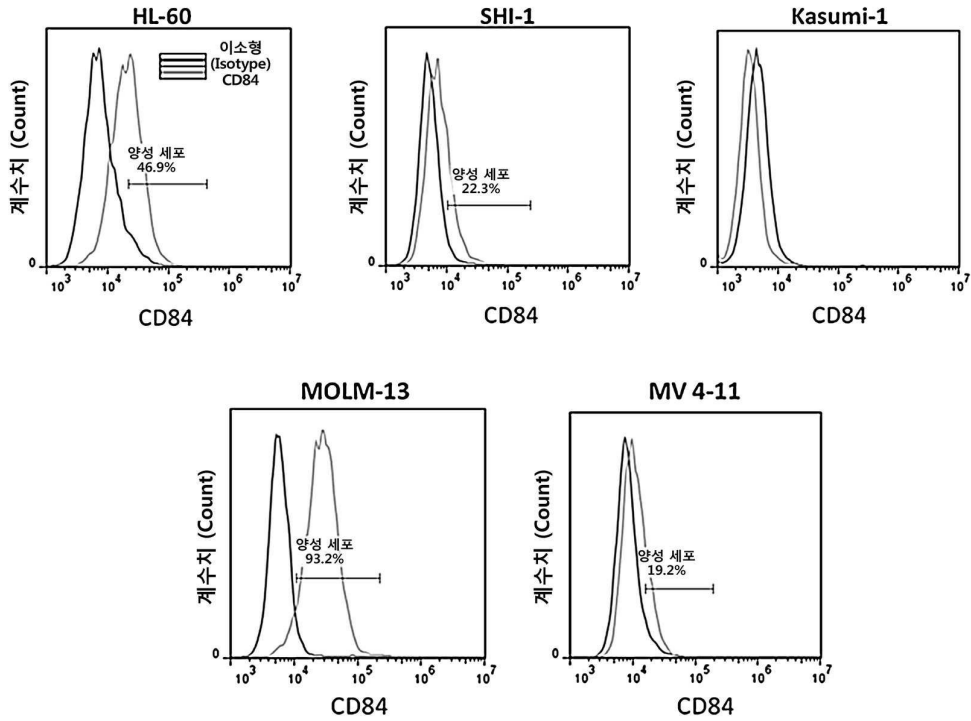
도면4c



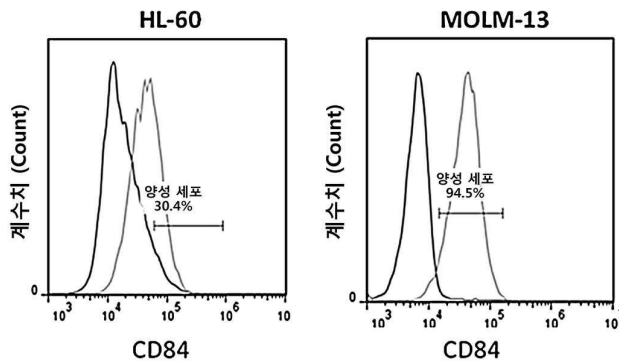
도면5a

AML 세포주

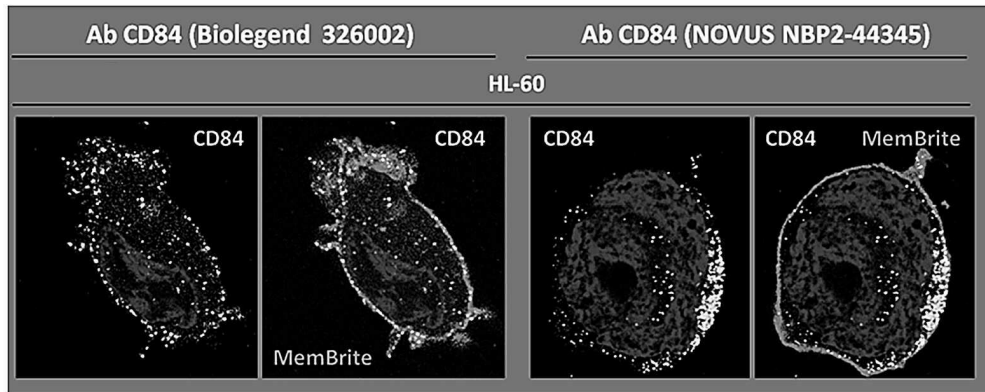
Ab CD84 (Biolegend 326002)



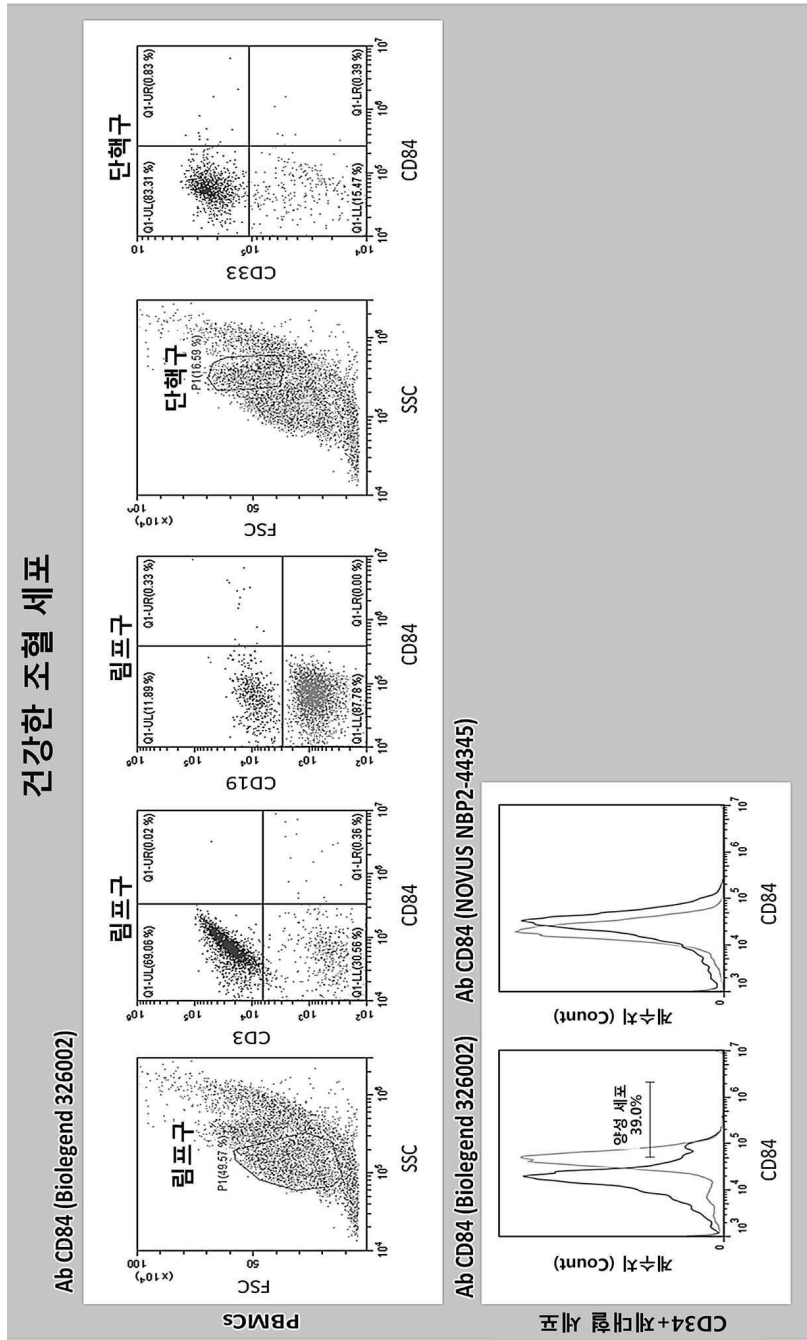
Ab CD84 (NOVUS NBP2-44345)



도면5b



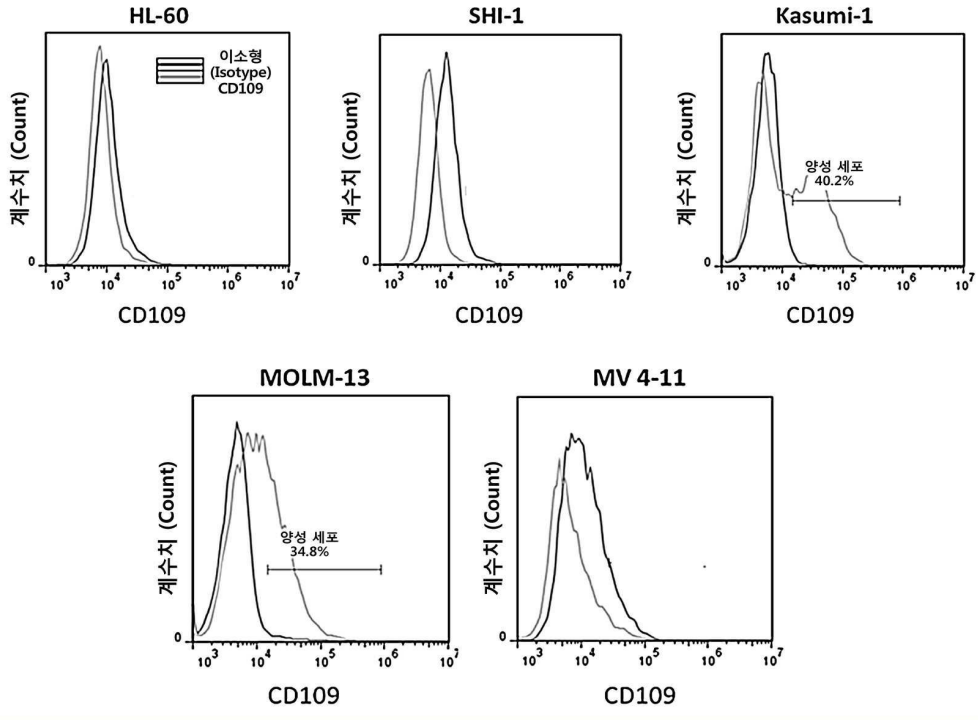
도면5c



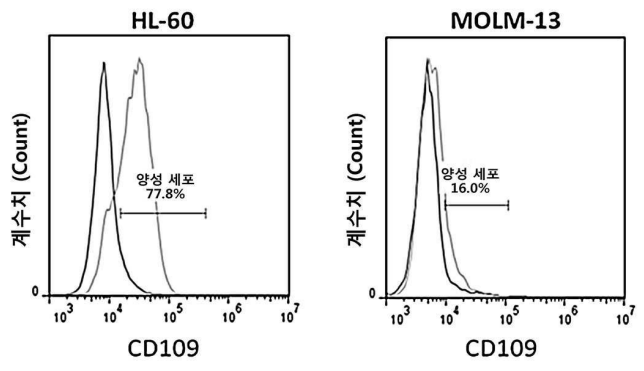
도면6a

AML 세포주

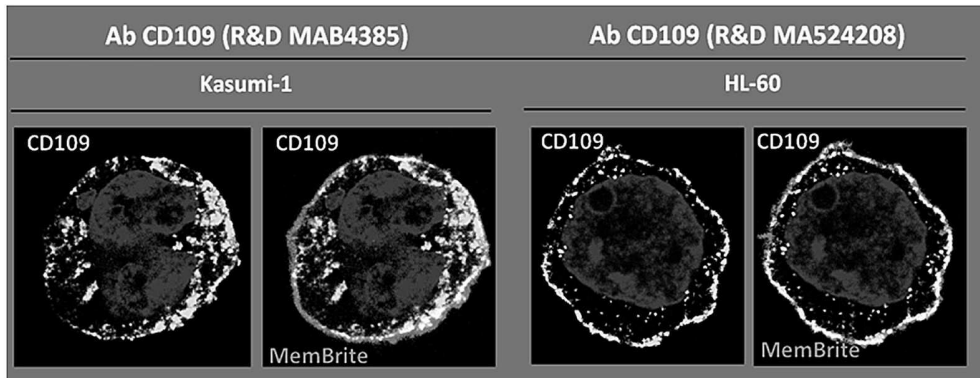
Ab CD109 (R&D MAB4385)



Ab CD109 (BD556039)



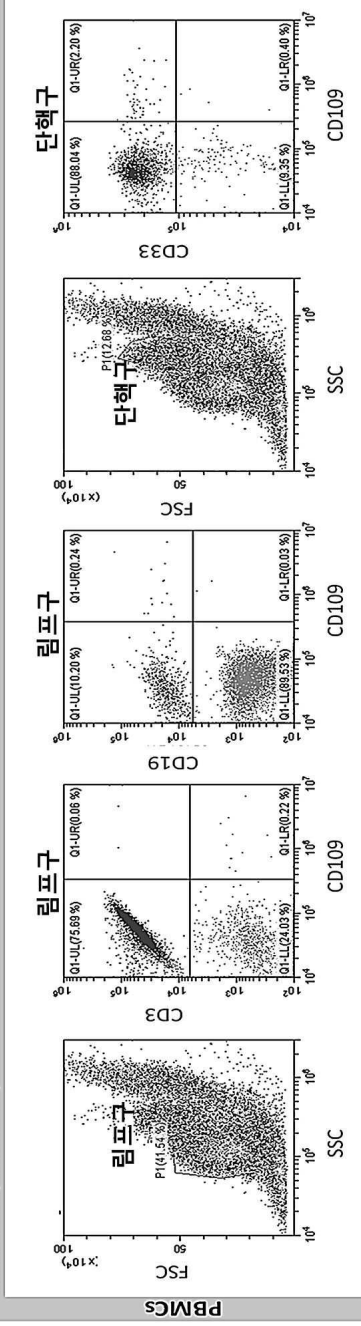
도면6b



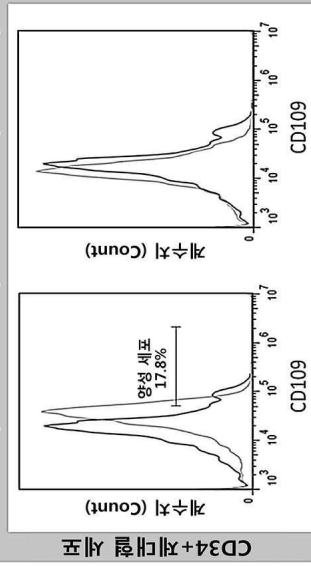
도면6c

건강한 조혈 세포

Ab CD109 (BD556039)



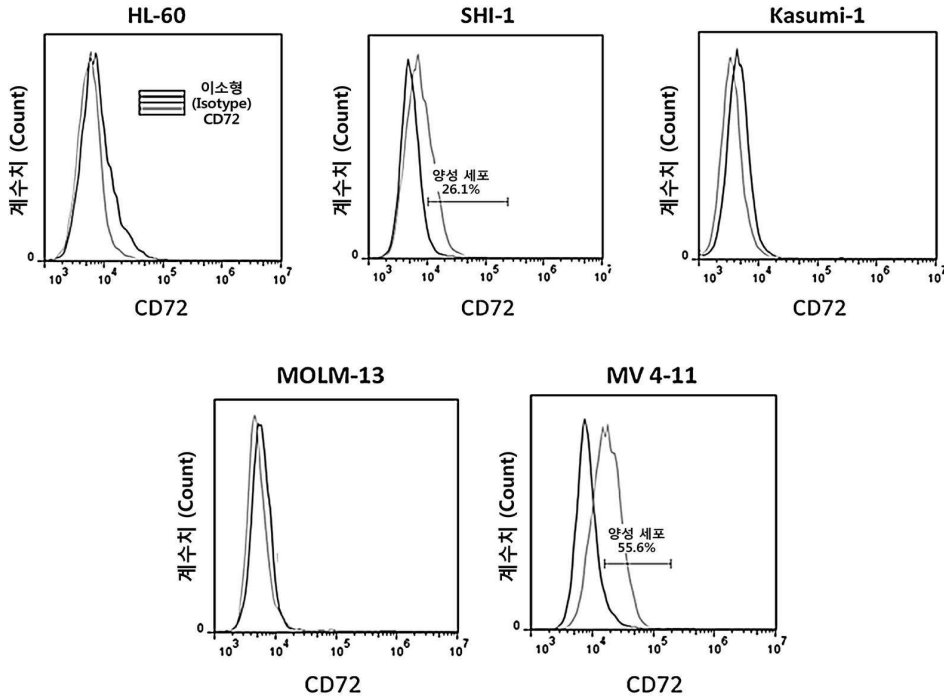
Ab CD109 (R&D MAB4385)



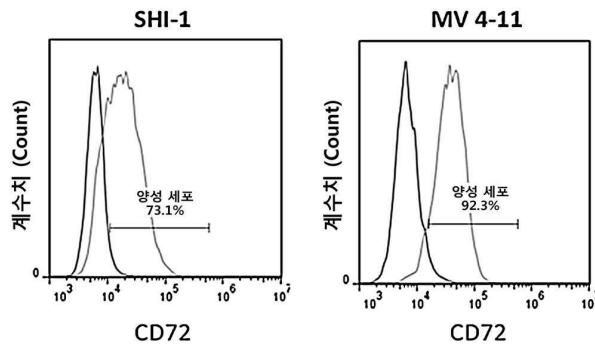
도면7a

AML 세포주

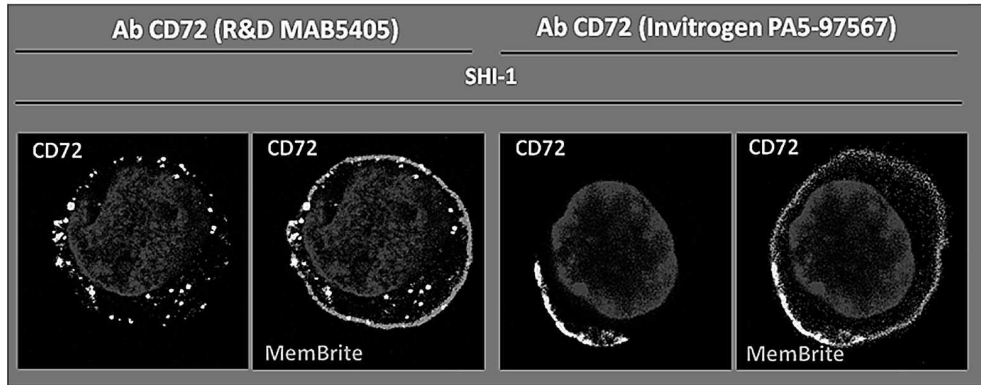
Ab CD72 (Biolegend 316202)



Ab CD72 (BD 555917)



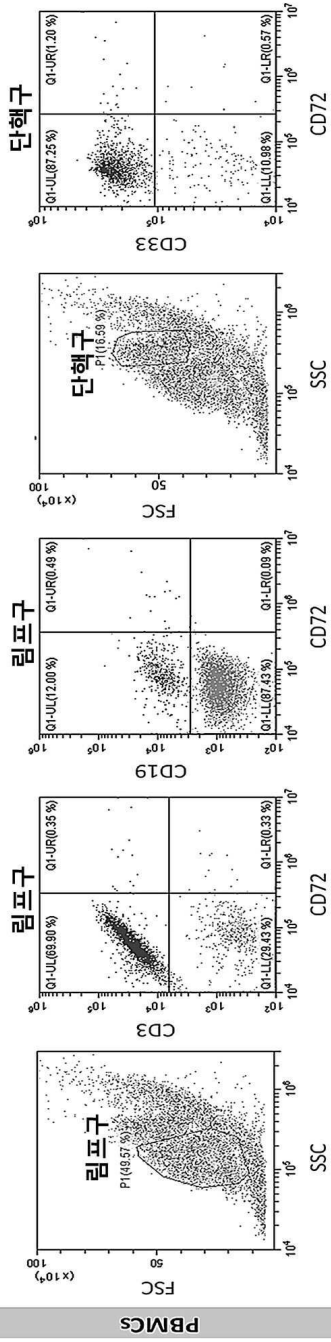
도면7b



도면7c

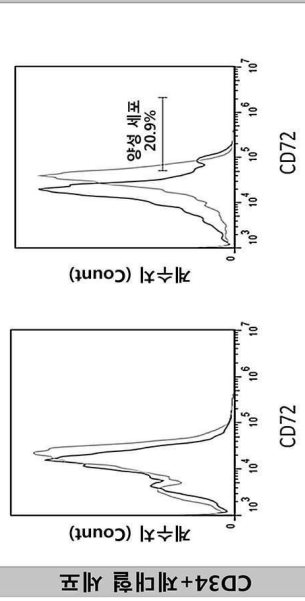
건강한 조혈 세포

Ab CD72 (Biolegend 316202)

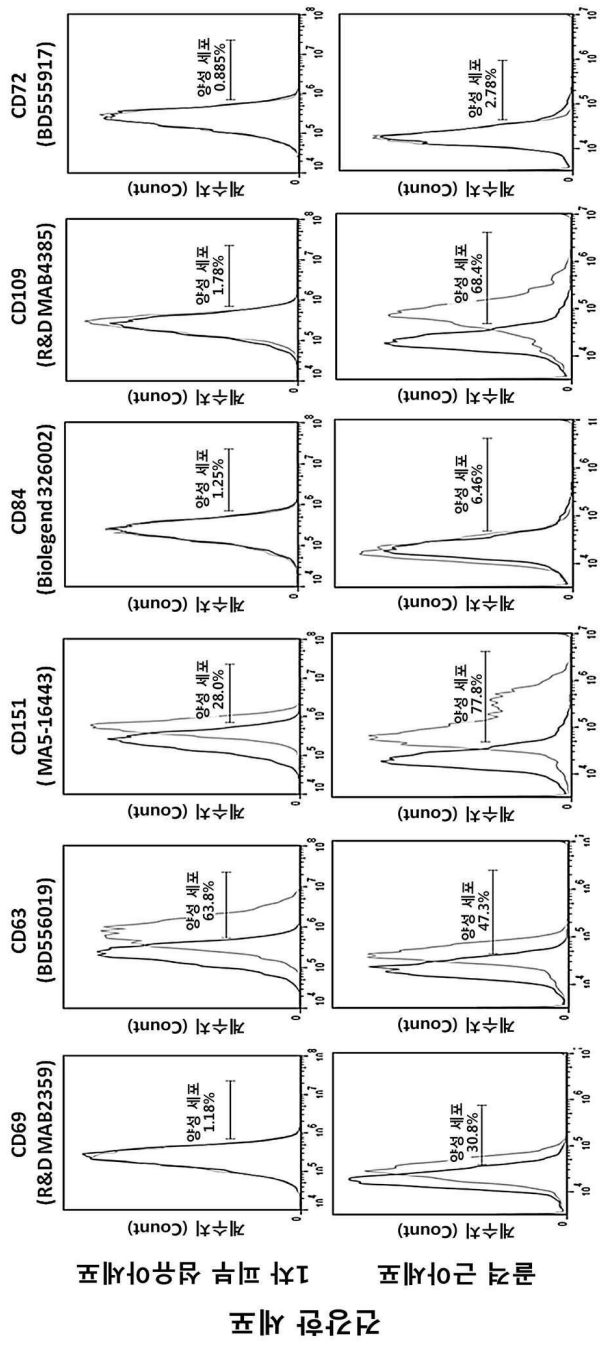


Ab CD72 (Biolegend 316202)

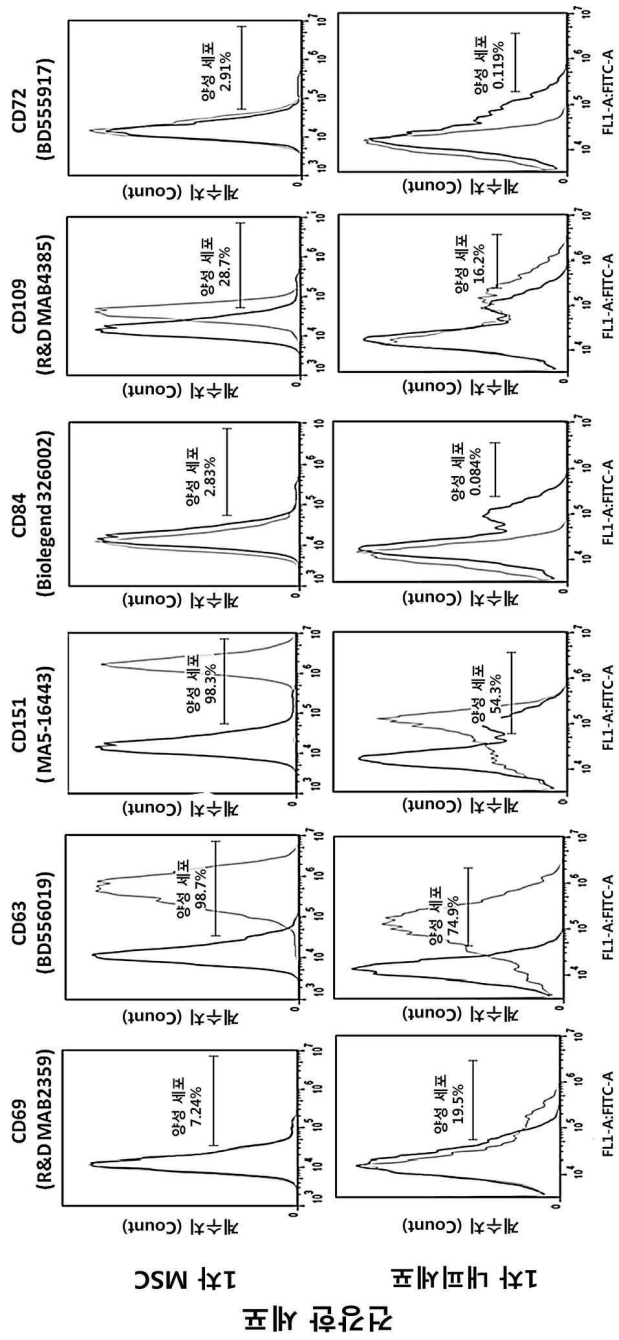
Ab CD72 (R&D MAB5405)



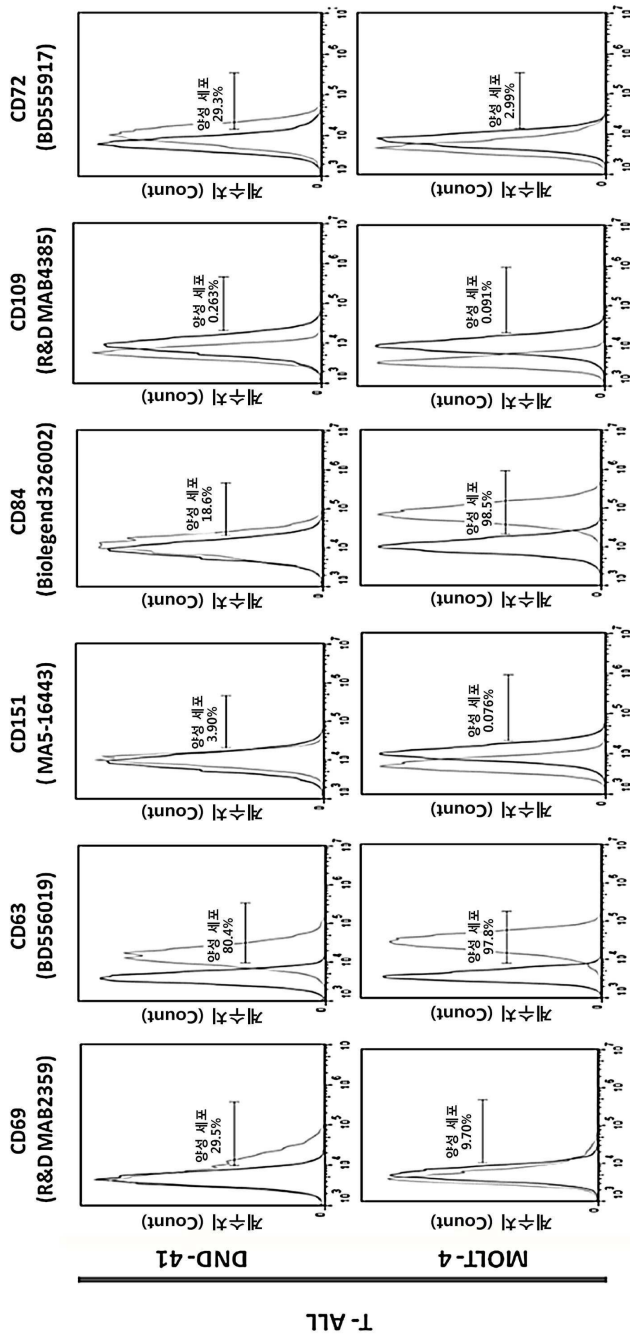
도면8a



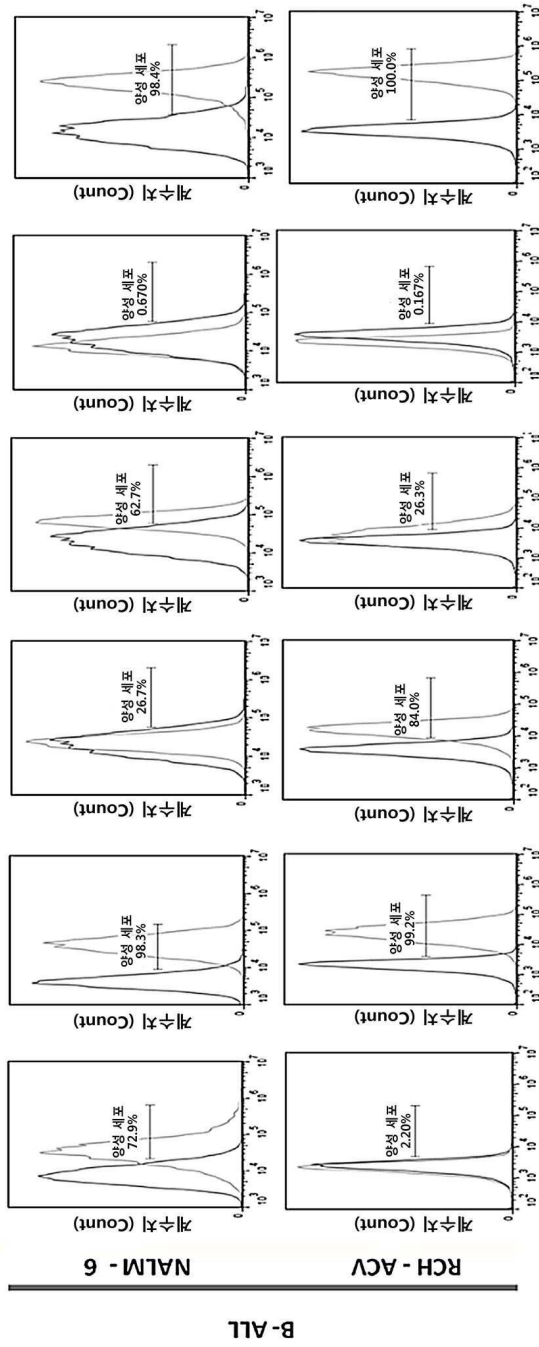
도면8b



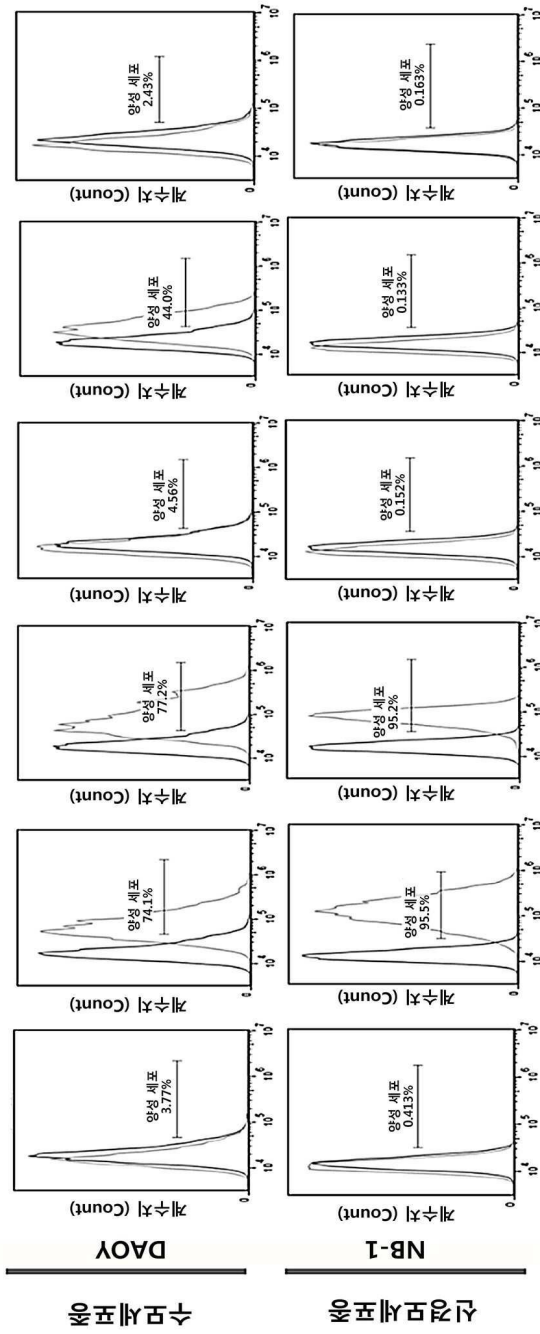
도면9a



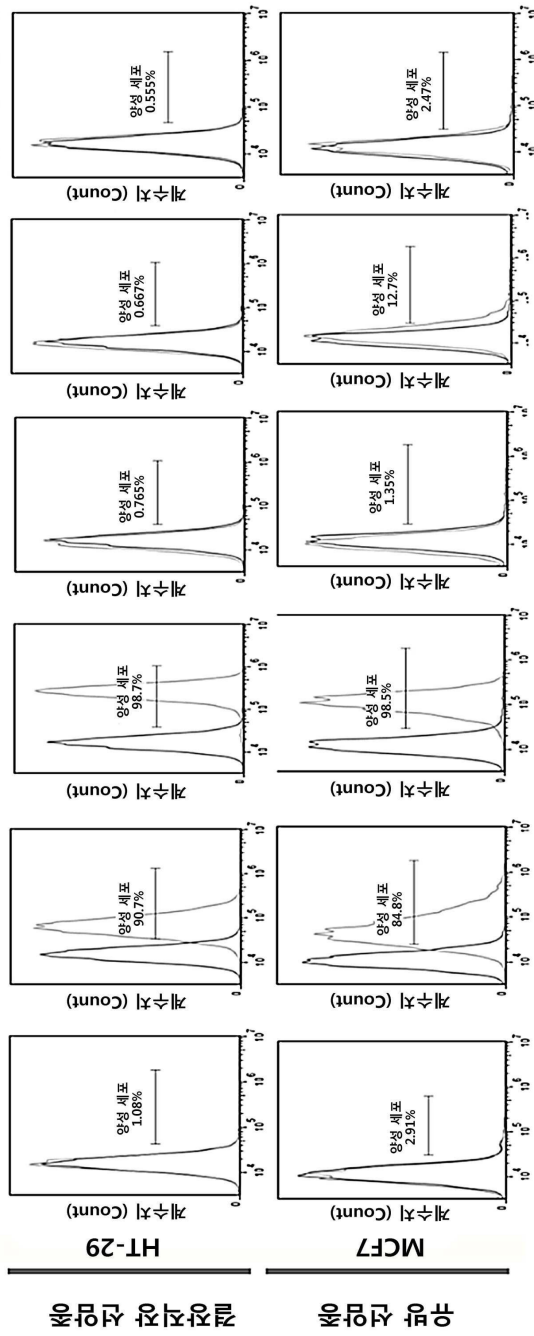
도면9b



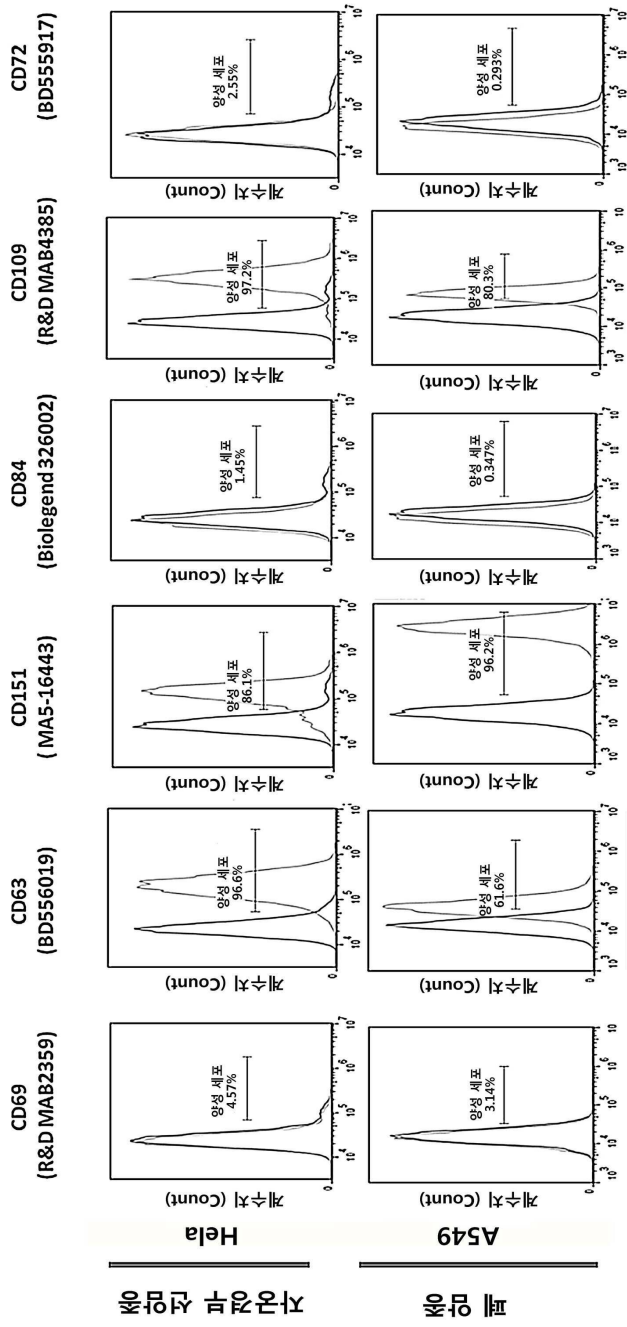
도면9c



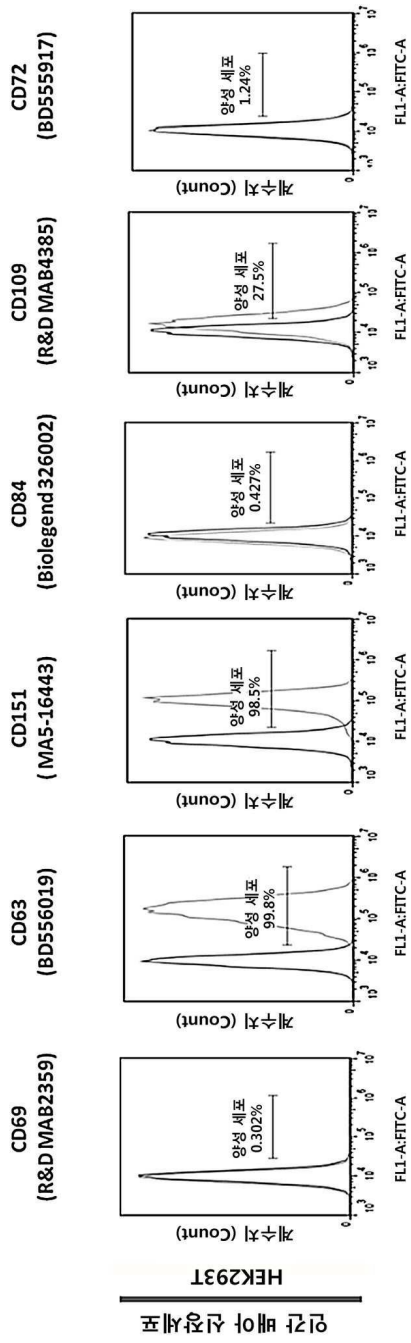
도면9d



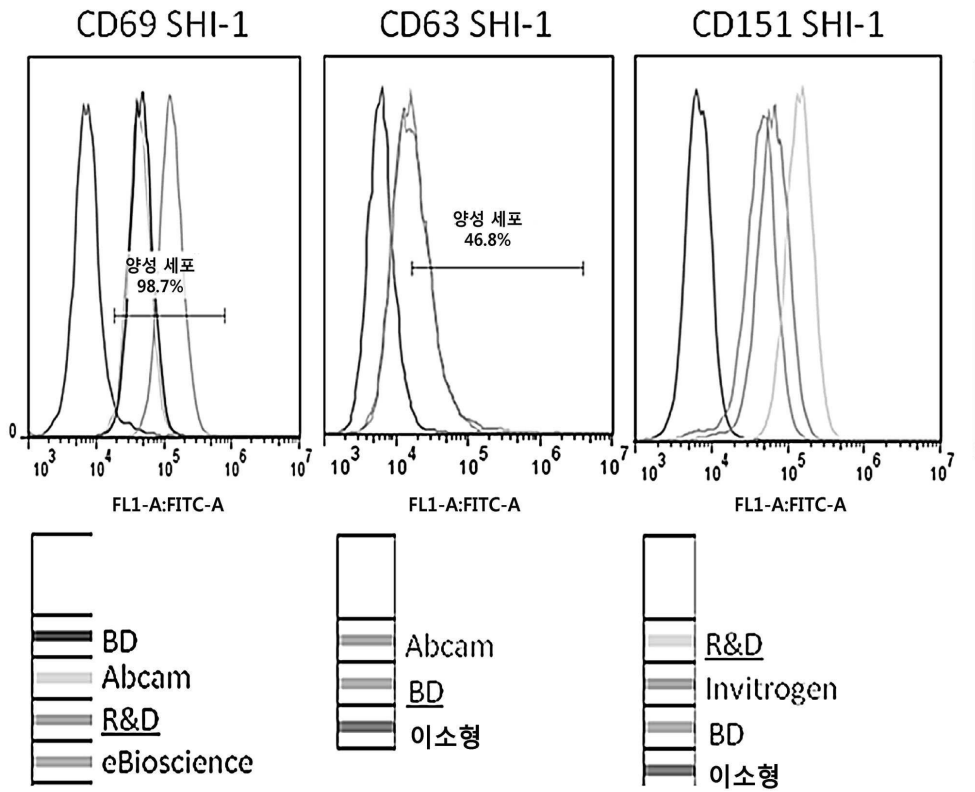
도면9e



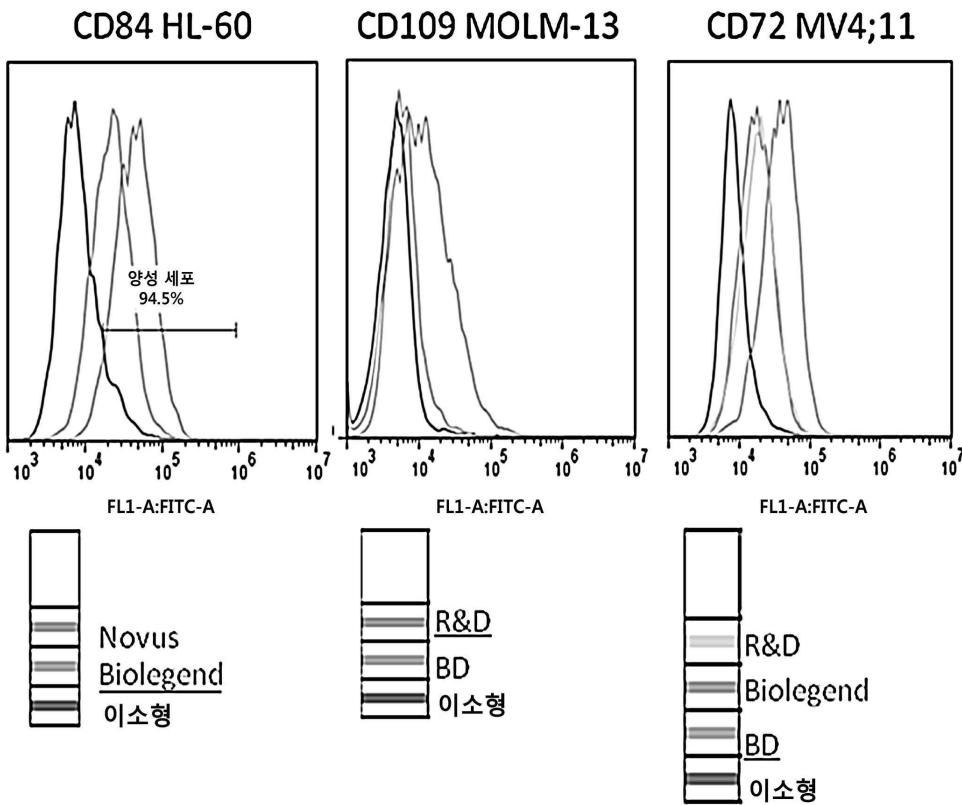
도면9f



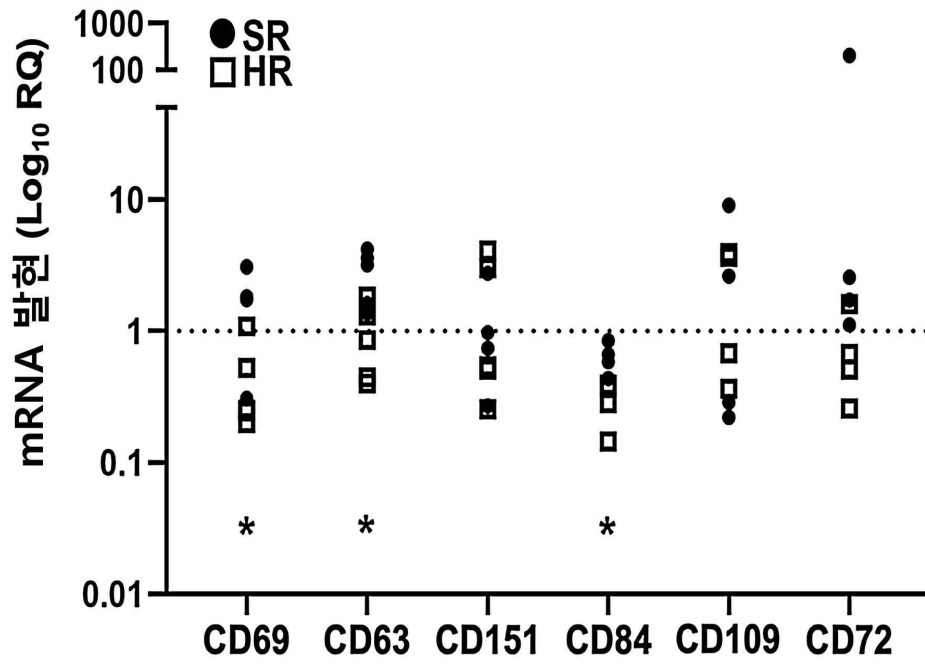
도면10a



도면10b

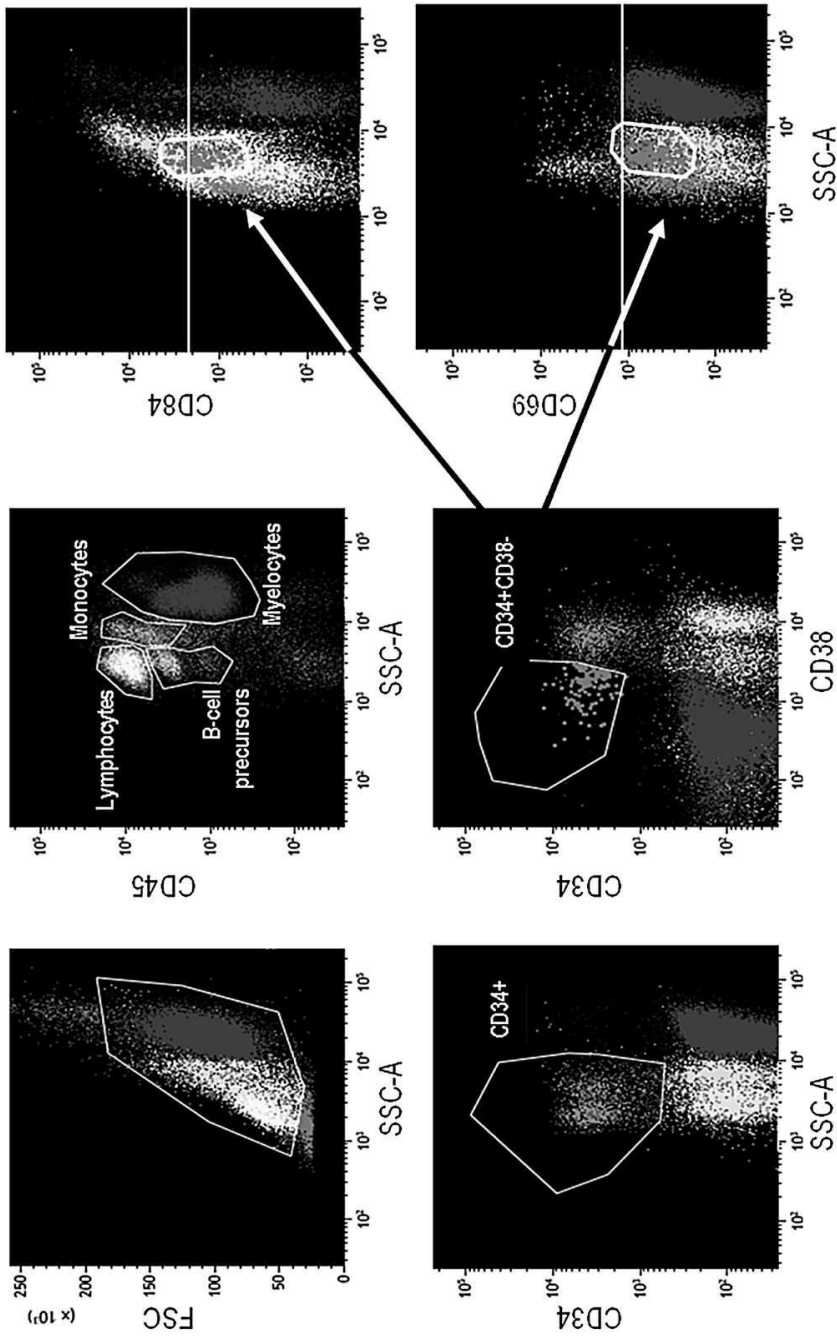


도면11

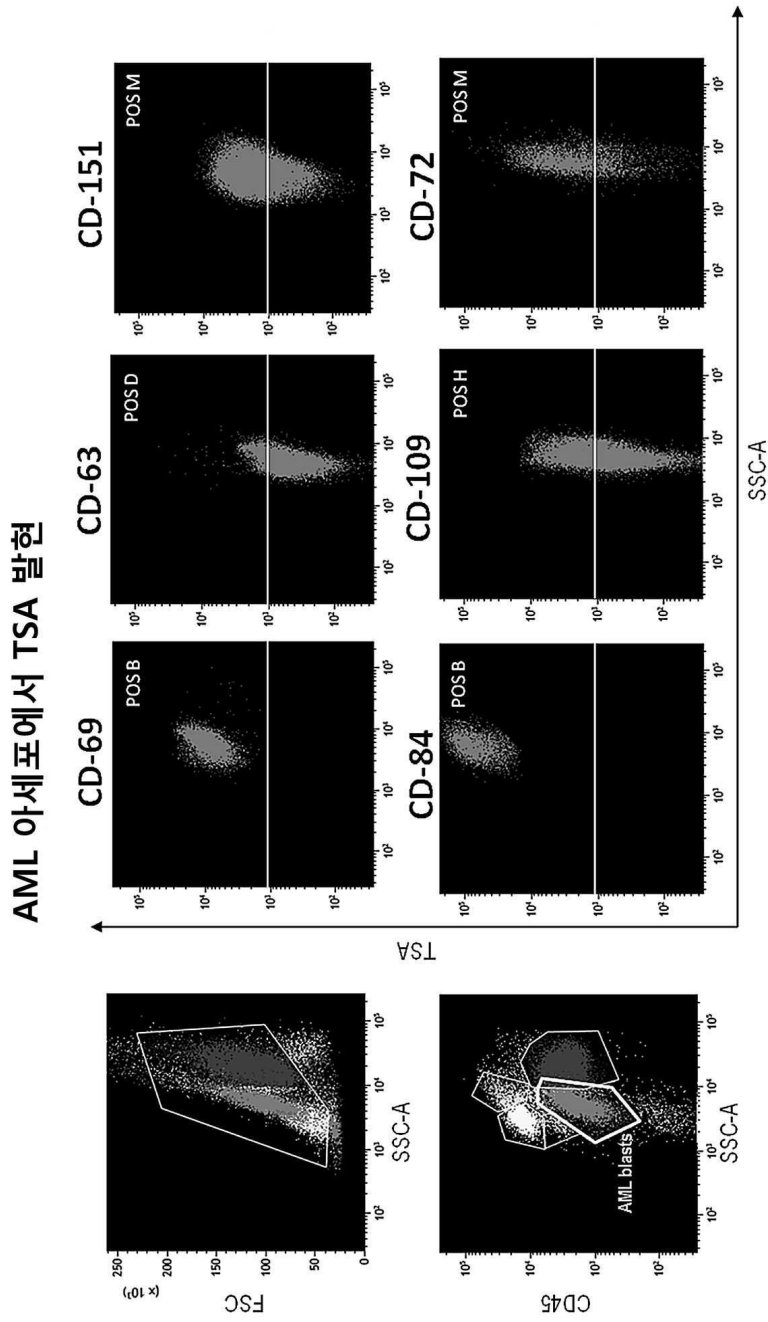


도면12a

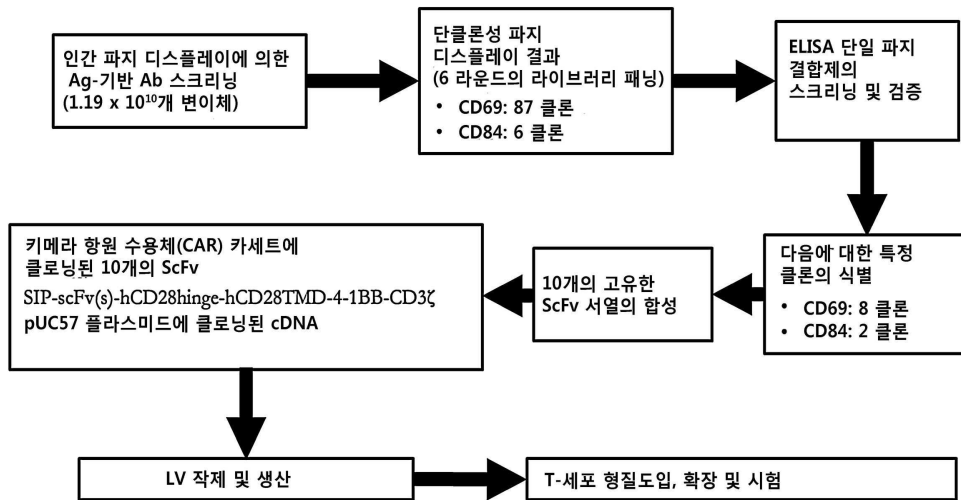
건강한 CD34+CD38-에서의 TSA 발현



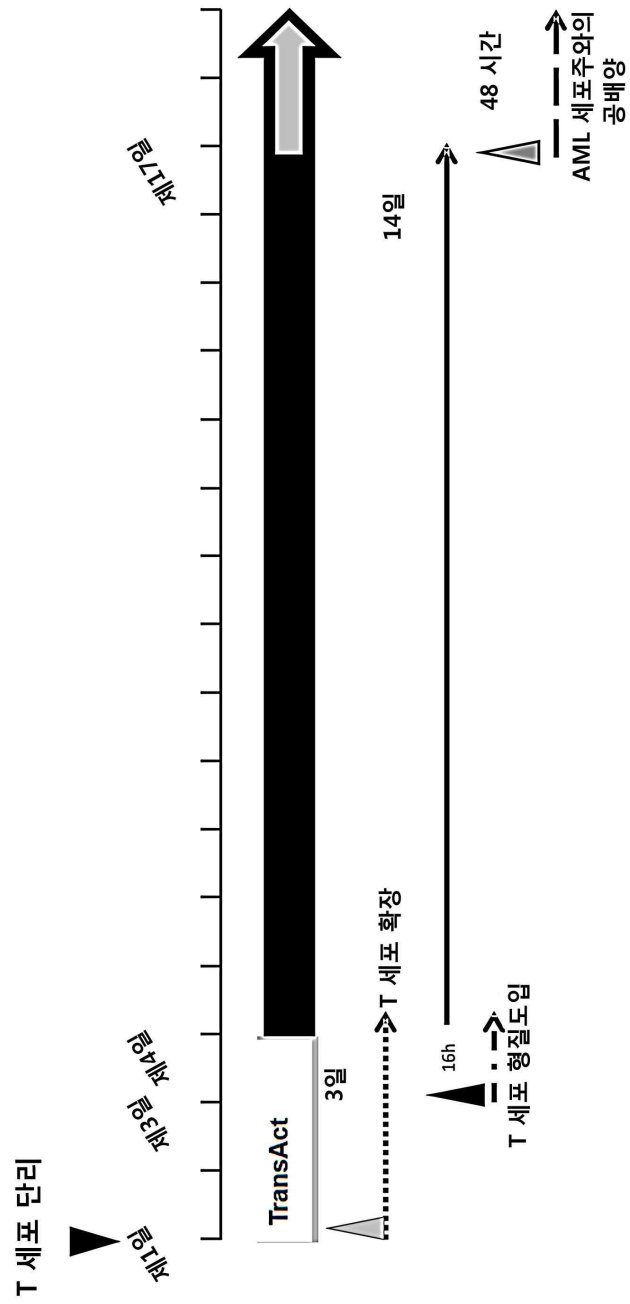
도면12b



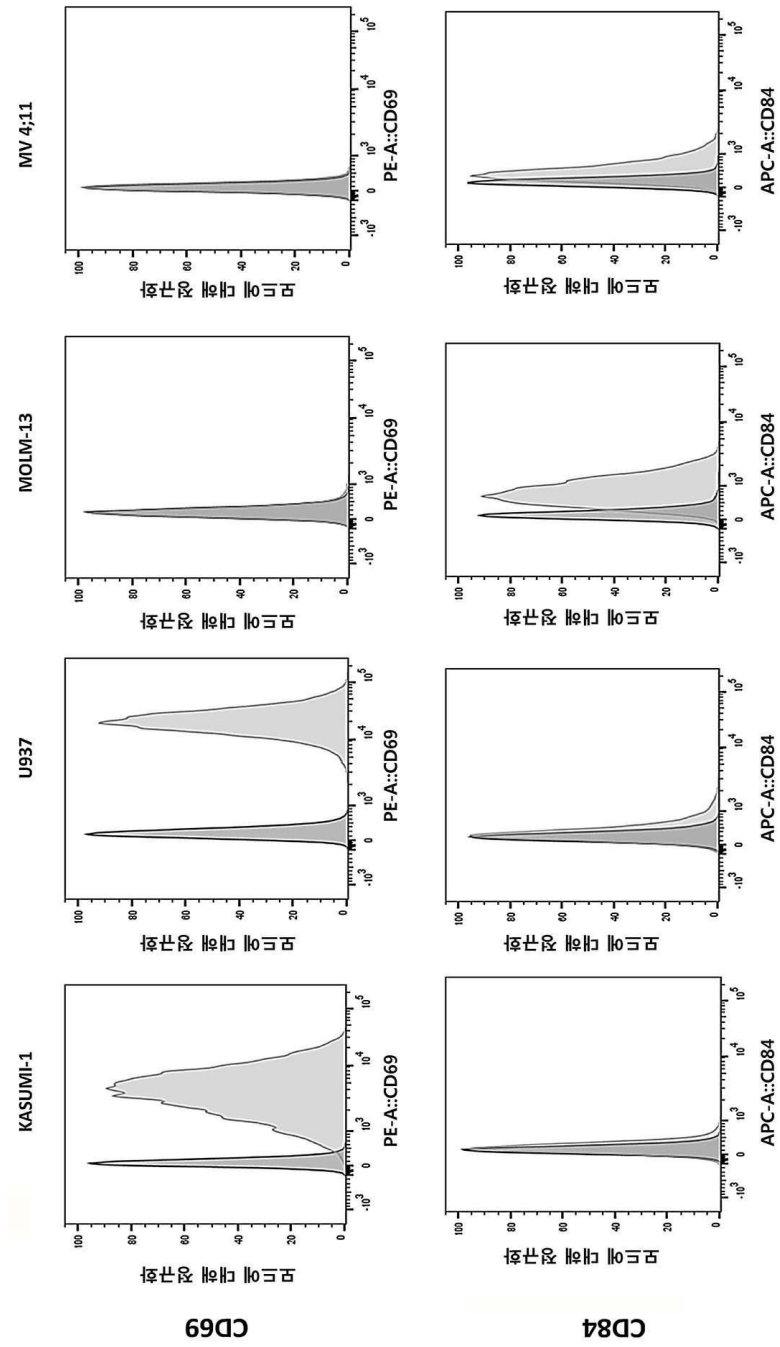
도면13



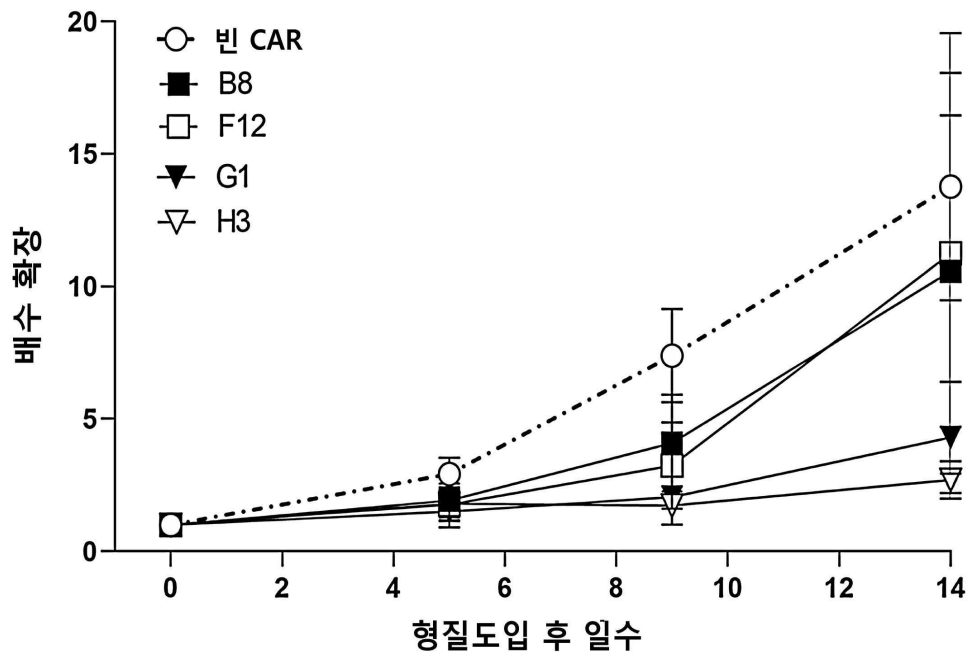
도면14



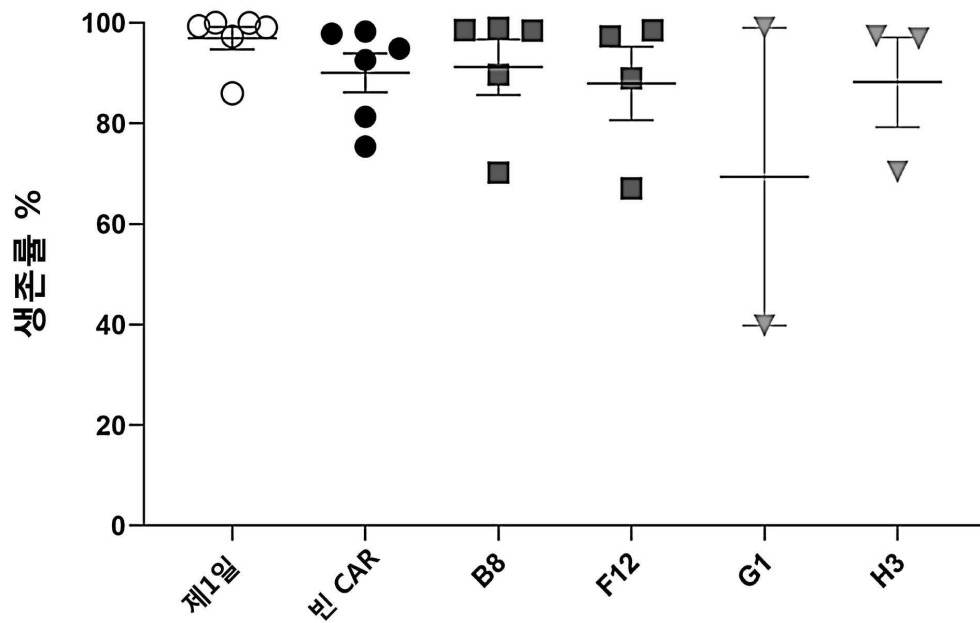
도면16b



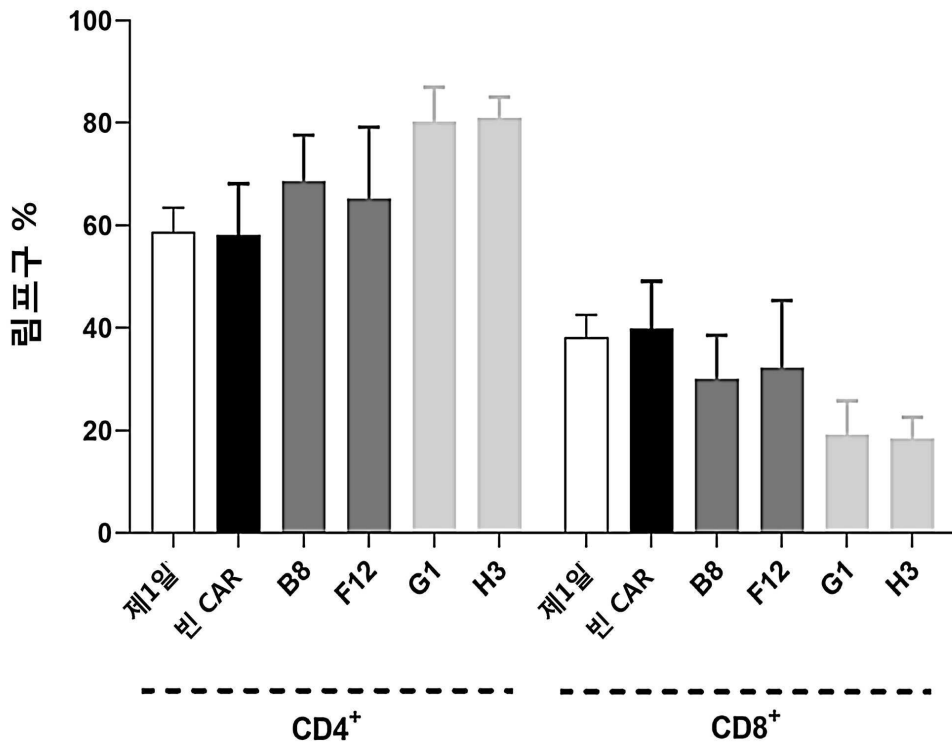
도면17



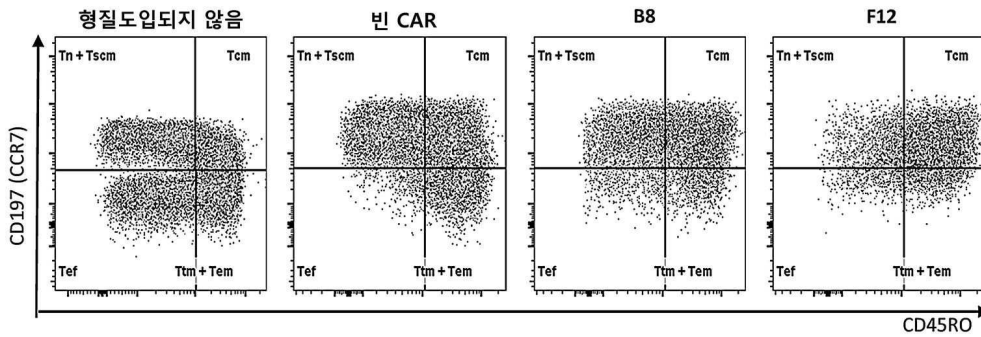
도면18a



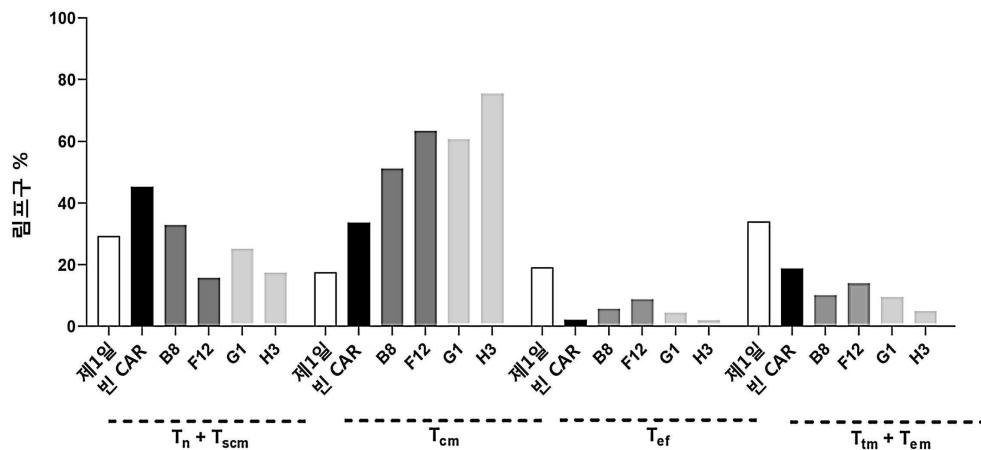
도면18b



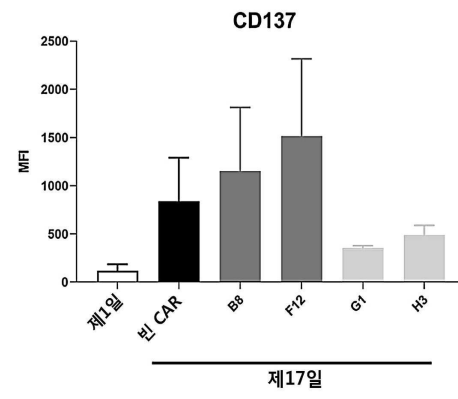
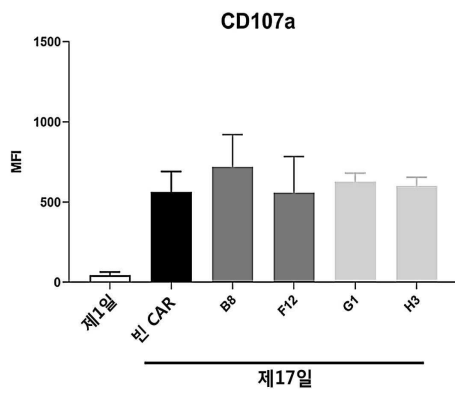
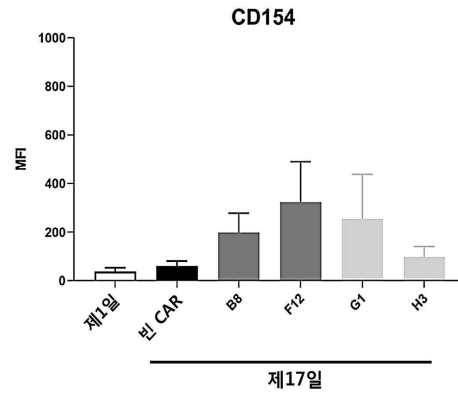
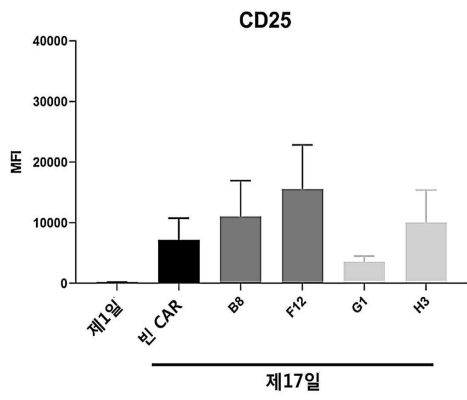
도면19a



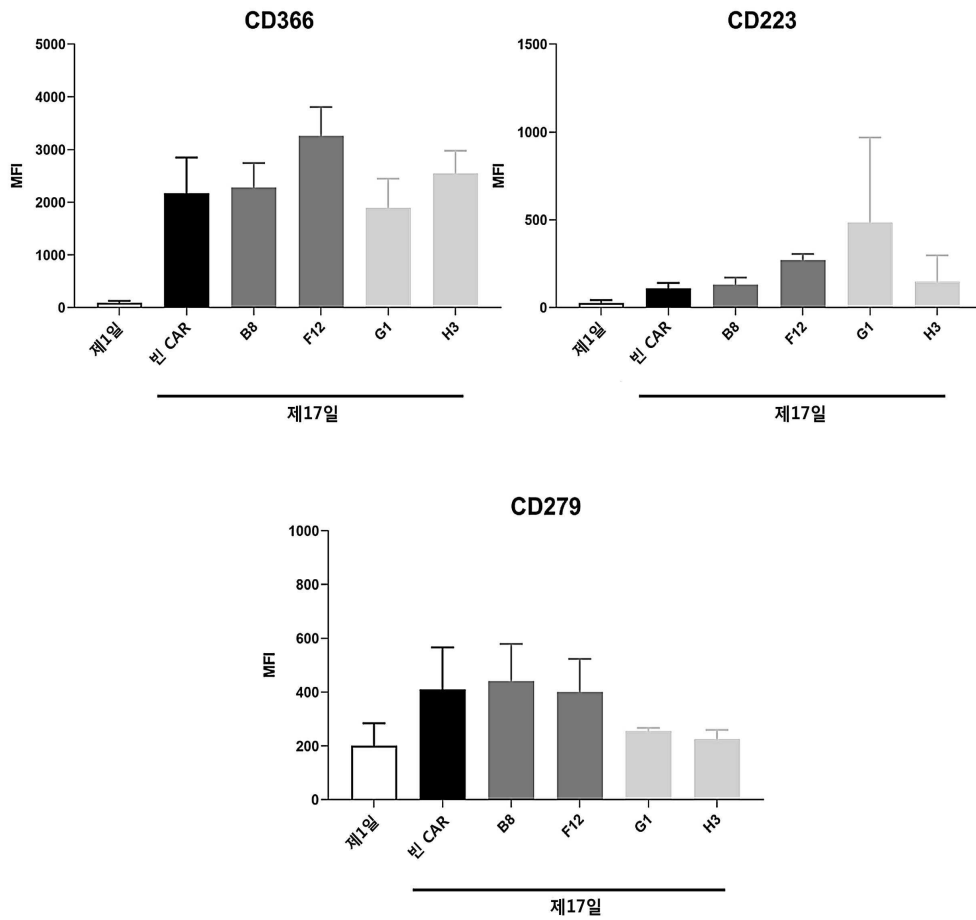
도면19b



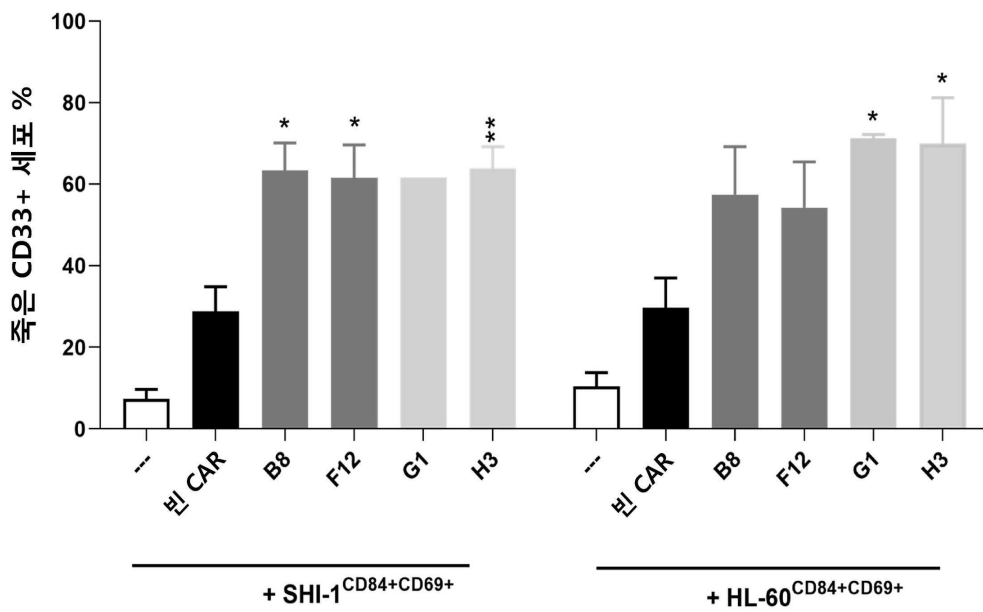
도면20a



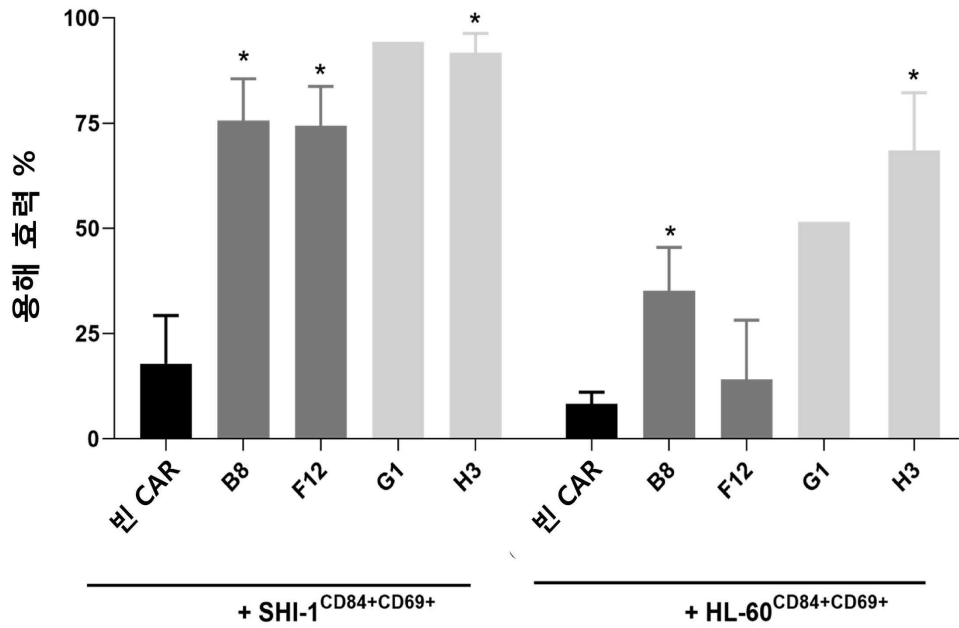
도면20b



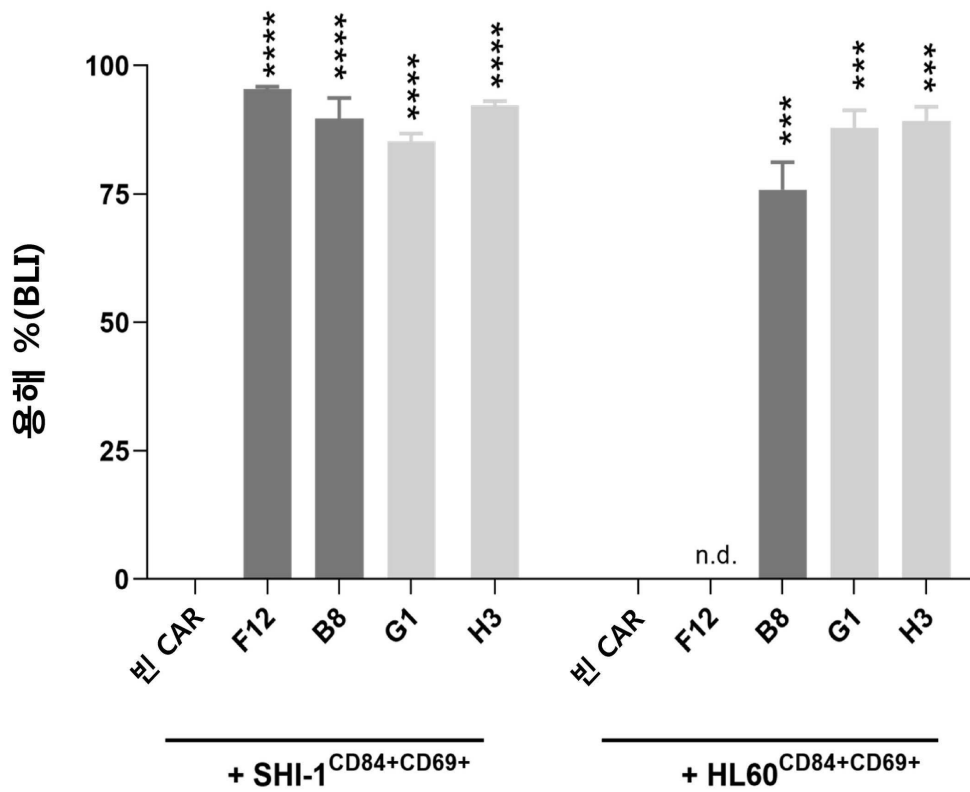
도면21



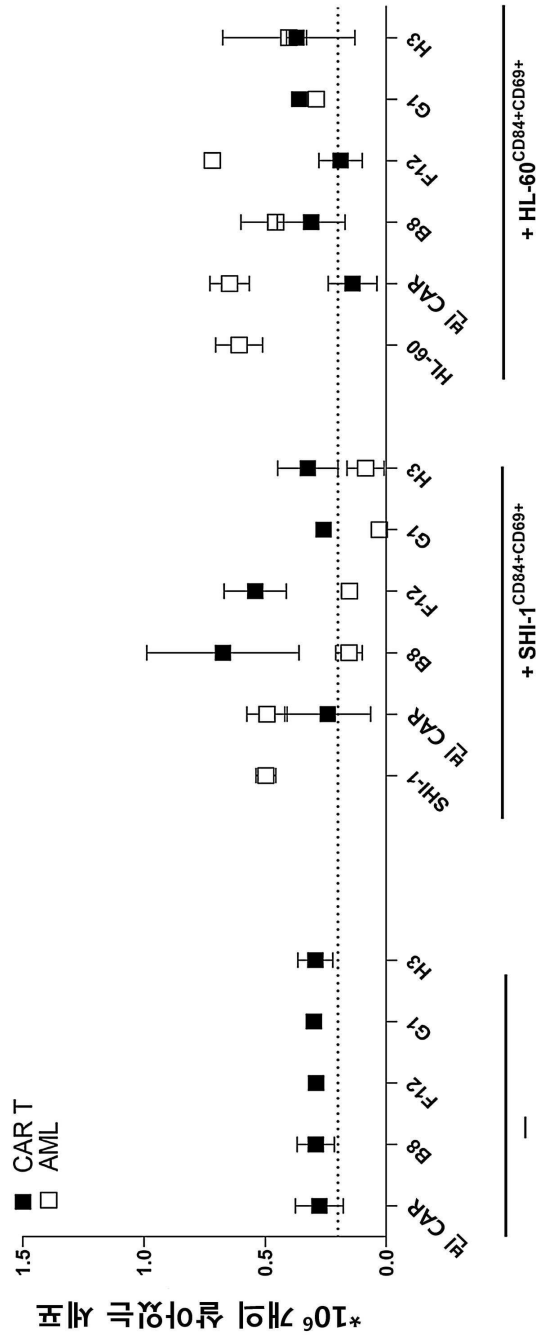
도면22



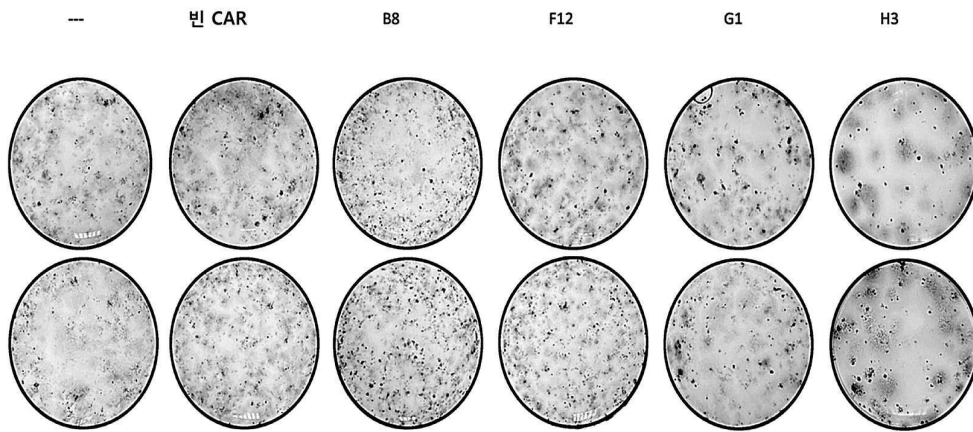
도면23



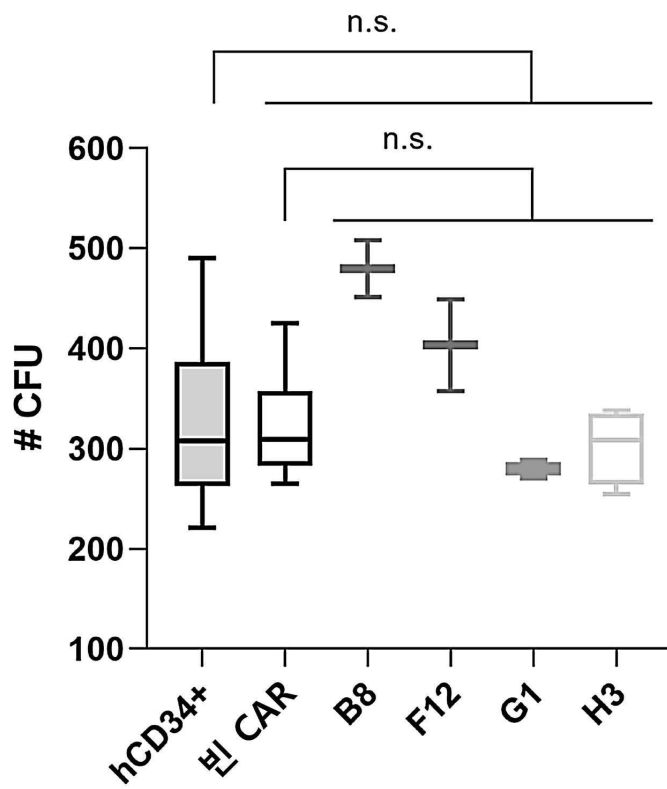
도면24



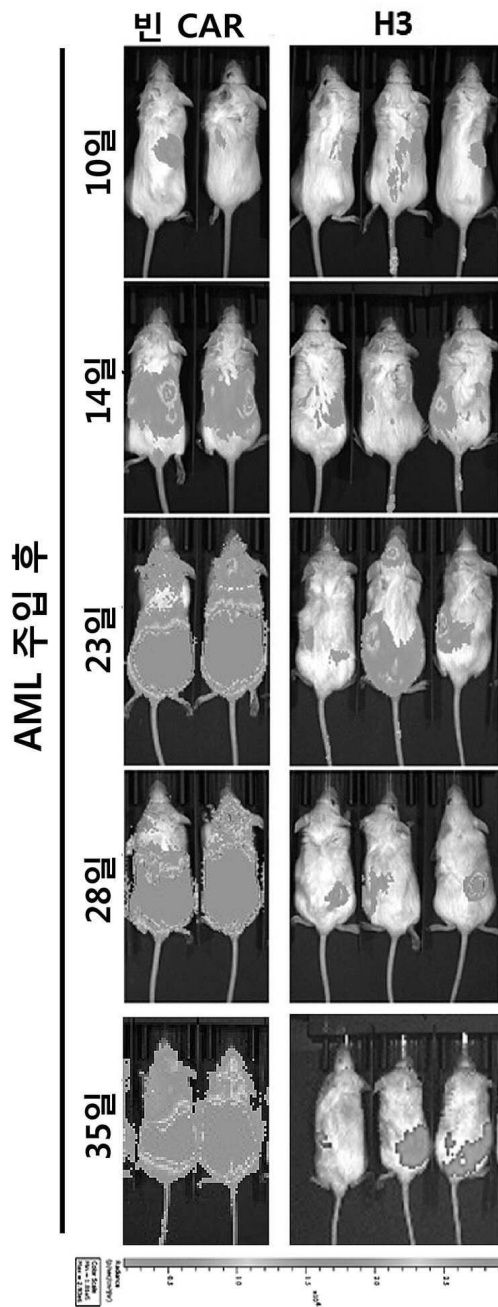
도면25a



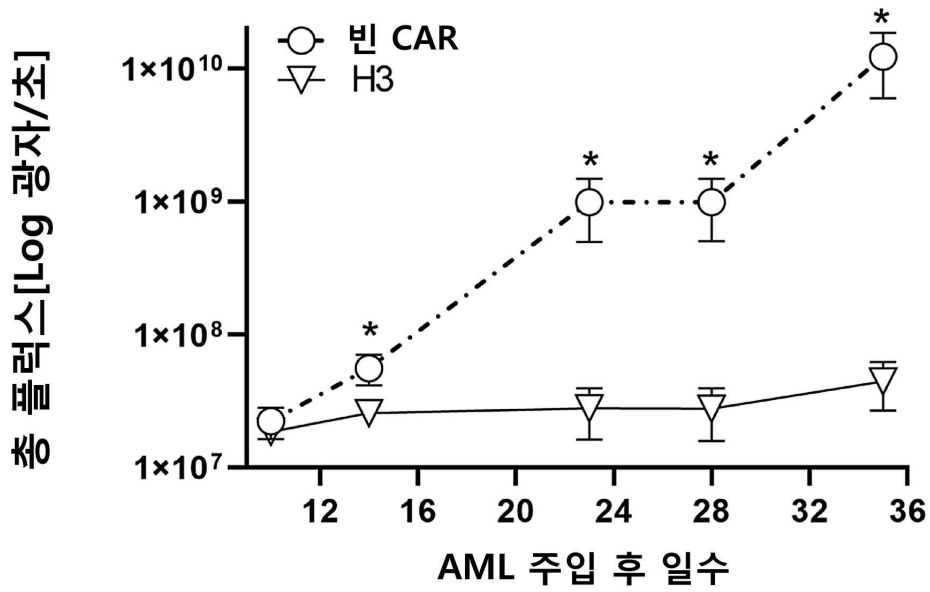
도면25b



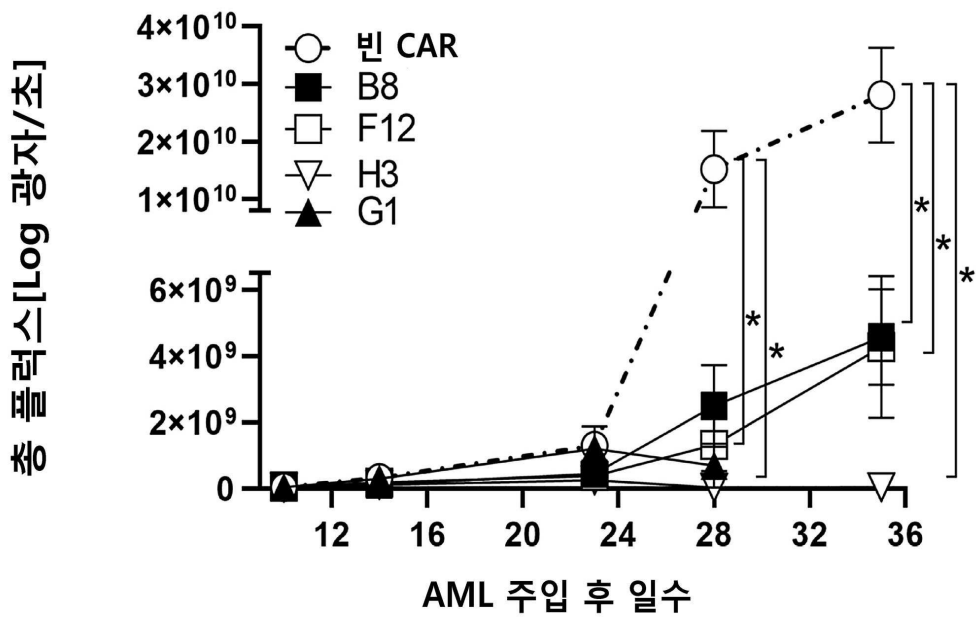
도면26a



도면26b



도면26c



도면27a

포유동물 세포에서의 발현을 위해서 최적화된 서열의 유전자 합성

SIP-scFv(14721-P1-A1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgcccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTGTGCTGCTGGTGGCCGCCCCAGGTGGGTTCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCTGGCTGGTGACGCTAGCAGAACCTGAGCCTGACATGTGCCATCAGCGGCGA
 TTCCATCTCCAGCAATACCCCTCTGGAAGTGGATCAGACAGAGCCCTAGCAGGGCCCTGGAGTGGGTGGGCAAG
 ACAGAGTACAGATCCGGCTGGTCTTCGAGTACGCCCTCCGTGGGCGGCAGAGTGAATATCTCCCCGATACAA
 GCAAGAACCAGTTCAGCTGCAGCTGAATAGCGTGACACCTGAGGATACAGCCGTGACTTCTGCGCCAGGGACTC
 CTACAATGACTACGATAACGACGGCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACAGTGAGCAGCGCGGCGGC
 GGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGCGGCGGTAGCGGAGGAGGTGGATCTCAGTCCGTGCTGACCCAGCCCCC
 A GCGTGTCCGCTTATCTGGACAGAAAGTGACATCAGCTGACAGCGGCTCTCCAATATCGGCTCCAACACTACG
 GGCCTGGTACCAGCAGCTGCCCGCACAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGACACCAACAAGAGGCCAGCGGCATC
 CCCGATAGGTTTAGCGCTCCAAGAGCGGCACATCCGCCACCCTGGGCATCACCGGCCTGCAGACAGGCGATGAGG
 CCGACTACTACTGTGGCACATGGGACAGCTCCCTGAGCGCCGAGGTGTTCCGGCACAGGCACAAAGGTGACCGTGT
 GATCGAGGTGATGTACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCTGTGGTACAGTGCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCAGGAGGAGGAGCGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGAGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCGAGGACCCCTG
 AGATGGGCGGCAAGCTAGAAGAAAGAACCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:24)

SIP-scFv(14721-P1-C1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgcccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTGTGCTGCTGGTGGCCGCCCTAGATGGGTGCTGTCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCCTGTCCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGA
 TAGCGTGAGCAGCAACTCCGCCAGCTGGAATTGGATCAGGCAGTCCCCAGCAGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAAG
 ACAGAGTACAGATCCAAGTGTTACTACGAGTTTCCCTAGCGTGAAGAGCAGAATCAACATCACCCCTGATACCA
 GCAAGAACCAGTTTTCCCTGCAGCTGAATCCGTGACCCCTGAGGACACCGCCGTGACTACTGCGTGAGAGACTC
 CTACAACGGCTACGATTTTGACGGCTTCGATATCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCCAGCGGCGGAGGC
 GGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGCGGAGGAGGAGGAGGAGGTGAAGCCAGAGCGTGTGACACAGCCCCC
 TA GCGTGTCCGCCGCCAGGACAAAAGGTGACAATCAGCTGTCCGGCTCCTCCAATATCGGCAGAACTACGT
 GGCCTGGTACCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGACACCAATAAGAGGCCCTCCGGCATC
 CCCGATAGATTCTCCGGCTCCAAGAGCGGCACATCCGCCACCCTGGGCATCACCGGCCTGCAGACAGGCGATGAGG
 CCGACTACTACTGTGGCACATGGGATTCTCCCTGTCGGCCGAGGTGTTTGGCACCCGGCACAAAGGTGACCGTGTCT
 GATCGAGGTGATGTACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCTGTGGTACAGTGCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCAGGAGGAGGAGCGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGAGAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCGAGGACCCCTG
 AGATGGGCGGCAAGCTAGAAGAAAGAACCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:25)

SIP-scFv(14721-P1-F1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgcccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTTCTGTGCTGCTGGTGGCCGCCCTAGATGGGTGCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCTGGCTGGTGAAGCCTCCAGACACTGTCCCTGACATGTGCCATCAGCGGCGA
 CTCCGTGTTCTCCAATAGCGCCAGCTGGAATTGGATCAGACAGGCCCTCCAGAGGCCTGGAGTGGCTGGGCAAG

도면27b

ACAGAGTACAGGTCCAAGTGGTTTGACGAGTACGCCCCAGCGTGAAGGGCAGAATCGCCATCAGACCTGACACCT
 CCAAGAACCAGGTGTCCTCGCAGCTGAATAGCGTGACCCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGTGTGAGAGATAG
 CTACAACGGCTACGATTTTGTATGGCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACCTGTTGACCGTGAGCTCCGGCGGAGGC
 GGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGGGAGGCGGTAGCGGAGGAGGTGGAAGCCAGAGCGTGTGACCCAGCCTCC
 TAGCGTGAGCGCGCCCTGGACAGCAGGTGATCATCTCTGACGCGGCTCCAGCTCCAACGTGGGCAATAACTACG
 T GGCTGGTACCAGCAGGTGCCCGGCTGCTCCAGGCTGCTGATCTACGACAACACAAGAGACCCTCCGGCATC
 CCCGACAGGTTTTCCGGCAGCAAGTCCGGCACCTCCGCCACCCTGGGCATCACCGGACTGCAGAGCGGGACGAGG
 CCGACTACTACTGTGGCAGCTGGGATAGCTCCCTGAGCGCCGAGGTGTTTGGCGGGCACCAGCTGACAGCCCT
 GATCGAGGTGATGATACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTTCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGTTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTCGCCTTATCATCTTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTTATGAGGCCGCTGCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGCAAGCCTAGAAGAAAAGAACCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:26)

SIP-scFv(14721-P1-G1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTGCTGCTGGTGCCGCCCCAGGTGGGTTCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCCTCCAGACACTGAGCCTGACATGCGCCATCTCCGGCGA
 CAGCGTGTTCAGCACACCAGCCAGCTGGAATTGGATCAGACAGAGCCCCAGCAGAGCCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 ACCGAGTACAGGAGCAAGTGGTTCGACGAGTACGCCCCAGCGTGAAGGGCAGGATCGCCATCAGACCTGACACAT
 CCAGAAATCAGGTGAGCCTCGAGCTGAATAGCATGACACCCGAGGATACCGCCGTGTAATCTGTGTGAGAGACAG
 CTACAACGGCTACGACTTCGACGGCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACAACAGTGACAGTCCGGCGGCGGGC
 GGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGGCGGGCGGGAAGCGGAGGAGGAGTTCTCAGAGCGTGGTGACACAGCCCCC
 A GCGTGAGCGCCGCTCTGGACAAAAGGTGACCATCTCTGCTCCGGCAGCAGCAACATCGGCAATAACTACGT
 GTCTGTGACAGCAGCTGCCTGGCACCCGCCCAAGCTGCTGATCTACGACAACAATAAGAGGCCAGCGGCATC
 CCGTGCAGGATTCGCGGCTCCAAGAGCGGCCACCTCCGCCACCCTGGGCATCACAGGCCCTGCAGACAGGCGACGAGG
 CCGACTACTACTGTGGCAGATGGGATAGCTCCCTGTCCGCCGAGATGTTTGGCGGGCACCAGGTGACCGTGTGCT
 GATCGAGGTGATGATACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTTCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGTTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTCGCCTTATCATCTTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTTATGAGGCCGCTGCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGCAAGCCTAGAAGAAAAGAACCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:27)

SIP-scFv(14721-P1-C2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTGCTGCTGGTGCCGCCCTAGGTGGGTTCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACCCTGTCCCTGACATGCGCCATCAGCGCGGA
 TAGCGTGTCCAGCAATAGCGCCTCTGGAATTGGATCAGACAGAGCCCTAGCAGAGGCCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 GTGGAGTACAGGTCCAAGTGGTACGATGAGTACGCCCCCTCCGTGAAGAGCAGAATCGCCATCAGACCTGACACAT
 CCAAGAACCAGGTGAGCCTGCACCTGATCTCCGTGACACCTGATGATACAGCCGTGTAATCTGCGCCAGGGACTC
 CTACAACGGCCACGCTTCGATGGCTTTGATGTGTGGGGCCAGGGCACAAGTGGTACCCTGTCCAGCGGGCGGGC
 GGATCTGGAGGAGGAGGAGCGGGCGGAGGCTGTGAGGAGGTGGAAGCCAGTCCGTGCTGACCCAGCCCCC
 T CCGTGAGCGTGTCCAGGACAGAAGGTGACAATCAGCTGCTCCGGTCCAGCTCCAACATCGGCGATAATCTGGT
 GAGCTGGTACCAGCAGCTGCCTGGCACAGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATAACAATAAGAGACCCCTCCGGCATC

도면27c

CCCGACAGGTTCCAGCGGCAGCAAGTCCGGCACCTCCGCCACTGGACATCACAGGCCTGCAGACCGGCGACGAGG
 CCGACTACTACTGCGAGAGCTGGGATAACAACCTGACCCCGAGGTGTTCCGGCACCGGCACAAAGGTGACAGTGCT
 GATCGAGGTGATGATACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGCGTGTGG
 CTTTAAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGTCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCGCCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCAAGGAGGCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGTgagtcgac (서열번호:28)

SIP-scFv(14721-P1-F2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCCAGATGGGTGCTGTCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCCGACTGGTGAAGCCTTCCAGACCTGAGCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGA
 CTCGGTGTAGCAACTCCGCTCCTGGAAGTGGATCAGACAGTCCCTCCAGAGGCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 ACAGAGTACAGGAGCAAGTGGTTGACGAGTACGCCCTTCCGTGAAGGGCAGGATCGCCATCAGACCCGATACCT
 CCAAGAATCAGGTGAGCCTGCAGCTGAATAGCGTGACACCCGAGGACACCGCGTGTACTACTGTGTGAGAGACTC
 CTACAATGGCTACGACTTCGACGGCTTGTACATCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTACCCTGTCCAGCGGCGGAGGC
 GGAAGCGGAGGAGGAGGAGCGCGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGTCCAGAGCGTGTGACCCAGCCCCCT
 AGCGTGAGCGCGCTCCTGGACAGAAGGTGACCATCAGCTGCTCCGGCGGCTCCAGCAACATCGAGAAGAACTACGT
 GAGCTGGTACCAGCAGCTGCTGGCACAGCCCTAAGCTGTGATCTACGACACCAATAAGAGGCCTAGCGGCATC
 CCGGACAGATTACAGCGGCTCCAAGTCCGGCACAAGCGCCACACTGGGCATACCGGCTGCAGACCGGCGACGAGG
 CCGATTACTACTGTGGCGCTGGGATAATATCTGAACTCCGAGATGTTCCGGCGGCGCACAAAGCTGACAGTGT
 GATCGAGGTGATGTACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGCAGTGCCTTATCATCTTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGTCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGTCCGCCGACGCCCCGCCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCAAGGAGGCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGTgagtcgac (서열번호:29)

SIP-scFv(14721-P1-H2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGAGCGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCAGACACTGAGCCTGACCTGTGCCATCAGCGGCGA
 TAGCGTGTAGCAACAGCGCCAGCTGGAATTGGATCAGGCAGAGCCCTCCAGGGGCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 ACCGAGTACAGGTCCAAGTGGTTGATGAGTACGCCCTAGCGTGAAGGGCAGGATCGCCATCAGGCCTGACACCT
 CCAAGAACCAGGTGCTCCTGCAGCTGAATCCGTGACACCTGAGGATACCGCCGTGTACTACTGCGTGAGGGATTC
 CTACAACGGCTACGACTTCGACGGCTTGTATATCTGGGGCCAGGGCACACTGTTGACAGTGTCTCCGGCGGCGG
 GGAAGCGGAGGAGGAGGATCTGGCGGCGGCTTCCGGAGGAGGAGGTTCTCAGTCCGTGGTGACCCAGCCTCCC
 A GCGTGAGCGCGCTCCTGGACAGAAGGTGACCATCAGCTGTAGCGGCAGCTCCTCAACATCGGCAACAACACTACGT
 GTCTGGTACCAGCAGCTGCCCGCACGCCCAAGCTGCTGATCTACGATAATAATAAGAGACCTTCCGGCATC
 CCCGATAGATTTCCGGCAGCAAGAGCGGCACAAGCGCCACCCTGGGCATCACAGGCCTGCAGACCGGCGACGAGG
 CCGATTACTACTGCGGCACCTGGGATAGCAGCCTGTCCGCCGAGGTGTTGGCGGCGGCACCAAGCTGACCGTGT
 GATCGAGGTGATGTACCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGCACAAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGCAGTGCCTTATCATCTTTTGGGTGAAGAGGGGCAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGTCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG

도면27d

GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGGTCCGCCGACGCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCCTG
 AGATGGGCGGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:30)

SIP-scFv(14721-P1-H3)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgcccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCCAGGTGGGTTCTGTCCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCGACTGGTGAAGCCAGCCAGACACTGAGCCTGACATGTGACATCTCCGGCGA
 TTCCGTGTTCTCAACACAGCCAGCTGGAATTGGATCAGGCAGAGCCCCAGCAGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAAG
 ACAGAGTACAGATCCAGTGGCTGCACGATACGCCCTTCCGTGAGATCCAGGATCGCCATCAGACCCGACACCT
 CCAAGAACCAGGTGTCCCTGCAGCTGTCTTCTGACCCCGAGGACACCGCCGTGACTACTGTGTGAGGGATT
 CTACAATGGCTACGCCCTTCGATGGCTTTGACACCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGACCGTGAGCAGCGGGGAGGC
 GGAAGCGGAGGAGGAGAAGCGGGGAGGAGGCTCCGGAGGAGGAGGTAGCCAGAGCGTGGTGACCCAGCCCC
 CA GCGTGTCCGCTGCTCTGGACAGAAGGTGACCATCAGCTGTTCCGGCAGGAACTCCAACATCGCCAACAACCTTGT
 GTCCTGGTACAGACAGCTGCCTGGCACCGCCCTAAGCTGCTGATCTACGACAATAAAGAGGGCTAGCGGCATC
 CCCGATAGATTCTCCGGCTCAAGAGCGGCACATCCGCCACCCTGGCCATCACCGGCCTGCAGACCGGCGACGAGG
 CCGATTACTGCGAGTCCGGATGCTCCCTGACCCGAGGTGTTTGGCACCGGCAACAAGGTGACCGTGT
 GATCGAGGTGATGACCCCTTACCTGACAAATGAGAAGTCCAACGGACAATCATCCAGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTCCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCGAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGTCCGCCGACGCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCCTG
 AGATGGGCGGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:31)

SIP-scFv(14722-P1-F12)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgcccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTCTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCTAGGTGGGCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAGCCAGACACTGAGCCTGACCTGTGCCATCTCCGGCGA
 CTCCGTGTCCAGCAACAGCGCCTCCTGGAAGTGGATCAGACAGTCCCTAGCAGGGGCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 GTGGAGTACAGATCCAAGTGGTACGATGAGTACGCCCCAGCGTGAAGAGCAGAATCGCCATCAGACCTGACACCA
 GCAAGAACCAGGTGTCCCTGCACCTGATCAGCGTGACCCCTGATGACACAGCCGTGACTACTGCGCCAGAGATAG
 CTACAACGGCCACGCTTTGATGGCTTTGATGTGTGGGGCCAGGGCACAATGGTGACCGTGAGCTCCGGCGGCGGC
 GGATCTGGAGGAGGAGGAAGCGGGCGGGCGGTTCTGGAGGAGGTGGAAGCCAGAGCGTGGTGACACAGCCTCCC
 T CCGTGTCCGCCGCCCTGGACAAAAGGTGACCATCTCTGACGCGCAGCAGCAACATCGGAATAACTACGT
 GTCCTGGTACCAGAGCTGCCTGGCACAGCCCCAAGCTGCTGATCTACGACAACAATAAGAGGCCAGCGGCATC
 CCCGACAGTTTCTCCGGCTCAAGTCCGGCACCTCCGCCACACTGGGCATCACAGGCCTGCAGACCGGGCAGGAG
 CCGACTACTACTGTGGCACCTGGGATTCCAGCCTGAGCGCCGAGGTGTTTGGCGGGCACAAGGTGACAGTGCT
 GATCGAGGTGATGATCCCCCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGGACAATCATCCAGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTCCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCGAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAGCAGTCCGCCGACGCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGTGAACCTGGGCAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCCTG
 AGATGGGCGGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCCAGGAGGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:32)

도면27e

SIP-scFv(14722-P2-B8)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCTTCCAGACACTGTCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGA
 CAGCGTGAGCAGCAATTCGCCAGCTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCCAGCAGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAAG
 GTGGAGTACAGGAGCAAGTGGTACGACGAGTACGCCCCAGCGTGAAGAGCAGAATCGCCATCAGGCCGACACAT
 CCAAGAATCAGGTGAGCCTGCACCTGATCAGCGTGACCCCGATGACACAGCCGTGTAATACTGCGCCAGAGACTC
 CTACAACGGCCACGCCCTTCGACGGCTTTGACGTGTGGGGCCAGGGCACAATGGTGACAGTGAAGTCCGGCGGGC
 GGCTCTGGAGGAGGAGGATCTGGCGGGCGGAAGCGGAGGAGGAGTTCTCAGAGCGTGTGACCCAGCCCCCT
 A GCTTGAGCGCCGCTCCTGGACAGAGTGAACATCAGCTGCTCCGGCACAACCTCCAATATCGCCAATAATTTCTG
 GTCCTGGTACCAGCAGCTGTCGGCTCCGCCCAAGCTGCTGATCAATGACAATAACAAGAGACCCTCCGGCATC
 CCCGATAGGTTCTCCGGCAGCAAGTCCGGCGCCTCCGCCACTGGCCATCACCAGGACTGCAGACAGAGGACGAGG
 CCGACTACTACTGTGGCGTGTGGGACAACAGCCTGAATGCCGAGGTGTTGGCGGGCCACCAAGGTGACCGTGCT
 GATCGAGGTGATGATCCCCCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGCGACAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTGCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCGAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAAGCAGGTCCGCCGACGCCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCGAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCGAGGAGGCGCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:33)

SIP-scFv(14722-P2-B11)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta cDNA - 1 506bp
 ggatccgccgccaccATGAAGCACCTGTGGTTTTTCTGCTGCTGGTGGCCGCCCTAGGTGGGTGCTGTCCCAGG
 TGCAGCTGCAGCAGTCCGGCCCGACTGGTGAAGCCTTCCAGACCCTGAGCCTGACATGTGCCATCTCCGGCGA
 CAGCGTGTCTCCAACCTCCGCCAGCTGGAAGTGGATCAGGCAGTCCCTTCCAGAGGCCTGGAGTGGCTGGGCAAG
 ACAGAGTACAGAAGCAAGTGGTACTACGAGTTTGCCCTAGCGTGAAGTCCAGAATCACCATACCCCCGACACCA
 GCAAGAATCAGTTTACGCTGACGCTGAATAGCGTGACCCCTGAGGATACAGCCGTGTAATACTGCGTGAGGGATAG
 CTACAACGGCTACGACTTCGACGGCTTTGATATCTGGGGCCAGGGCACACTGGTGACCGTGTCCAGCGGGCGGCG
 GGATCTGGAGGAGGAGGAAGCGGGCGGAGGCTCTGGAGGAGGTGAAGCCAGAGCGTGTGACCCAGCCCCCT
 A GCGTGAGCGCCGCTCCTGGACAGAAGGTGACAATCAGCTGCTCCGGCTCCAGCAGCAACATCGGCAGCAATTACGT
 GGCCTGGTACCAGCAGCTGCCTGGCACCCGCCCAAGCTGCTGATCTACGACACAACAAGAGGCCAGCGGCATC
 CCTGACAGGTTACGCGCAGCAAGAGCGGCACCAGCCACCCTGGGCATCACCAGGACTGCAGACAGGCGACGAGG
 CCGATTACTACTGTGGCACCTGGGACTCCAGCCTGAGCGCGGAGGTGTTGGCACAGGCACAAGGTGACCGTGCT
 GATCGAGGTGATGATCCCCCCCCCTACCTGGACAATGAGAAGTCCAACGCGACAATCATCCACGTGAAGGGCAAG
 CACCTGTGTCCAGCCCCCTGTTCCCGGCCCTAGCAAGCCCTTCTGGGTGCTGGTGGTGGTGGGCGGCGTGTGG
 CTTGTTACAGCCTGCTGGTGACAGTGCCTTCATCATCTTTGGGTGAAGAGGGGCGAGGAAGAAGCTGCTGTACAT
 CTTTAAGCAGCCCTTATGAGGCCCTGCAGACAACCCAGGAGGAGGACGGCTGTAGCTGCAGGTTTCTGAGGAG
 GAGGAGGGCGGCTGTGAGCTGAGAGTGAAGTTCAAGCAGGTCCGCCGACGCCCCCGCTACCAACAGGGACAGAATC
 AGCTGTACAATGAGCTGAACCTGGGCGAGAAGAGAGGAGTACGACGTGCTGGATAAGAGGAGAGGCAGGGACCTG
 AGATGGGCGGCAAGCCTAGAAGAAAGAACCCCGAGGAGGCGCTGTACAATGAACTGCAGAAGGACAAGATGGCCG
 AGGCCTACAGCGAGATCGGCATGAAGGGCGAGAGAAGGAGGGGCAAGGGCCACGATGGCCTGTACCAGGGCCTGT
 CCA CAGCCACCAAGGACACATACGACGCCCTGCACATGCAGGCCCTGCCCAAGGtgagtcgac (서열번호:34)

3. 예상된 단백질 서열

SIP-scFv(14721-P1-A1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.75kDa

도면27f

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVQPSRTLSLTCAISGDSISSNTASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRS
 GWFFEYAPSVGGRVNISPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYFCARDSYNDNDGFDIWGQGLTVTVSSGGGGSGGG
 GSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSGIPDRFS
 GSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEVFGTGKTVLVIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
 PLFPGPSKPFVWLTVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:35)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-C1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.93kDa

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVQPSRTLSLTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRS
 KWYEFAPSVKSRITIPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYVCVRDSYNGYDFDGFDIWQGLTVTVSSGGGGSGGG
 GSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSGIPDRFS
 GSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEVFGTGKTVLVIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
 PLFPGPSKPFVWLTVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:36)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-F1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.87kDa

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVQPSRTLSLTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRS
 KWFEYAPSVKGRIRAIPTDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYVCVRDSYNGYDFDGFDIWQGLTVTVSSGGGGSGGG
 GSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSGIPDRFS
 GSKSGTSATLGITGLQSGDEADYYCGSWDSSLSAEVFGGGTKLTALIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
 PLFPGPSKPFVWLTVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:37)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-G1)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.95kDa

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVQPSRTLSLTCAISGDSVFSSTASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRS
 KWFEYAPSVKGRIRAIPTDTSRNQVSLQLNSMTPEDTAVYFCVRDSYNGYDFDGFDIWQGLTTVTVSSGGGGSGGG
 GSGGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGSNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS
 GSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSSLSAEMFGGGTKVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
 PLFPGPSKPFVWLTVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGC
 ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLQYLNELNLRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
 GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:38)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-C2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.94kDa

MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVQPSRTLSLTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWVGKTEYRS
 KWYDEYAPSVKSRIRAIPTDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYFCARDSYNGHAFDGFVWQGLTVTVSSGGGGSGGG
 GSGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGDNLVSWYQQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS

도면27g

GSKSGTSATLDITGLQGTDEADYYCESWDNNLTAEVFGTGKVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (서열번호:39)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-F2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=54.06kDa
MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRS
KWFDEYAPSVKGRIRPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGGTLVTVSSGGGGSGGG
GSGGGGGSGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIEKNYVSWYQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS
GSKSGTSATLGITGLQGTDEADYYCGAWDNILNSEMFGGGKTLVIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (서열번호:40)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-H2)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.90kDa
MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVFSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRS
KWFDEYAPSVKGRIRPDTSKNQVSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGGTLVTVSSGGGGSGGG
GSGGGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGNNYVSWYQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS
GSKSGTSATLGITGLQGTDEADYYCGTWDSSLSAEVFGGGKTLVIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (서열번호:41)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14721-P1-H3)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=54.22kDa
MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCDISGDSVFSNTASWNWIRQSPSRGLEWLGKTEYRS
QWLHEYAPSVRSRIARPDTSKNQVSLQLSFTVTPEDTAVYYCVRDSYNGYAFDGFDTWGGTLVTVSSGGGGSGGG
GSGGGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGRNSNIANNFVSWYRQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS
GSKSGTSATLAITGLQGTDEADYYCESWSSSLTAEVFGTGKVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (서열번호:42)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14722-P1-F12)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.77kDa
MKHLWFFLLVAAPRWVLSQVQLQSGPGLVKPSQTLSTCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLGKVEYRS
KWYDEYAPSVKSRIARPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDYNGHAFDGFVWGGGTMVTVSSGGGGSGGG
GSGGGGGSGGGGSQSVVTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSNIGNNYVSWYQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGIPDRFS
GSKSGTSATLGITGLQGTDEADYYCGTWDSSLSAEVFGGGKVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVWLVVVGGLACYSLLVTVAFIIFWVVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGQNLNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMALPPR (서열번호:43)

도면27h

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14722-P2-B8)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.89kDa
MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLKGVVEYRS
KWYDEYAPSVKSRIRPDTSKNQVSLHLISVTPDDTAVYYCARDYNGHAFDGFVWVGQGTMTVSSGGGGGGGG
GSGGGGGGGGGGSQSVLTQPPSLAAPGQRVTISCSGTTNIANNFVSWYQQLSGSAPKLLINDNNKRPSGIPDRFS
GSKSGASATLAITGLQTEDEADYYCGVWDNSLNAEVFGGGTKVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVVLVVVGGVLAACYLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:44)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

> SIP-scFv(14722-P2-B11)-hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta - 494AAs MW=53.93kDa
MKHLWFFLLLVAAAPRWVLSQVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVSSNSASWNWIRQSPSRGLEWLKGVVEYRS
KWYEFAPSVKSRITITPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCVRDSYNGYDFDGFDIWGQGLTVTVSSGGGGGGGG
GSGGGGGGGGGGSQSVLTQPPSVSAAPGKVTISCSGSSNIGSNYVAWYQQLPGTAPKLLIYDTNKRPSGIPDRFS
GSKSGTSATLGITGLQTEDEADYYCGTWDSSLSAEVFGTGKTVTVLIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP
PLFPGPSKPFVVLVVVGGVLAACYLLVTVAFIIFWVKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFEEEEGGC
ELRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYDVLDRRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEI
GMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열번호:36)

특징 : SIP : [1 : 19] scFv : [20 : 274] hCD28hinge-hCD28TMD-4IBB-CD3zeta : [275 : 494]

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ALTHEIA SCIENCE

<120> DIAGNOSIS AND TREATMENT OF MYELOID DISORDERS AND ACUTE LEUKEMIAS
USING NOVEL TUMOR SPECIFIC ANTIGENS

<130> 008227621

<140><141><150> 63/170,976

<151> 2021-04-05

<160> 105

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<220>

<221> source

<223> /note="See specification as filed for detailed description of
substitutions and preferred embodiments"

<400> 1

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 2

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 3

Ser Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 4

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(50)

<223> /note="This sequence may encompass 1-10 'Gly Gly Gly Gly Ser' repeating units"

<400> 4

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Ser

50

<210> 5

<211> 50

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(50)

<223> /note="This sequence may encompass 1-10 'Ser Gly Gly Gly Gly' repeating units"

<400> 5

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

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Gly Gly

50

<210> 6

<210> 9
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 9
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5
<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 10
Gly Gly Gly Gly Gly Gly

1 5
<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 11
Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
1 5 10 15

<210> 12
<211> 15
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(15)

<223> /note="This sequence may encompass 1-3 'Glu Ala Ala Ala Lys' repeating units"

<400> 12

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

1 5 10 15

<210> 13

<211> 46

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 13

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 Ala Leu Glu Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala

 20 25 30

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

 35 40 45

<210> 14

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 14

Pro Ala Pro Ala Pro

1 5

<210> 15

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 15

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

1 5 10

<210> 16

<211> 34

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<220><221> SITE

<222> (1)..(34)

<223> /note="This sequence may encompass 5-17 'Ala Pro' repeating units"

<400> 16

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro

20 25 30

Ala Pro

<210> 17

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 17
Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg Ala Glu Thr Val Phe Pro Asp
1 5 10 15
Val

<210> 18
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 18
Pro Leu Gly Leu Trp Ala
1 5

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"
<400> 19
Arg Val Leu Ala Glu Ala
1 5

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 20

Glu Asp Val Val Cys Cys Ser Met Ser Tyr

1 5 10

<210> 21

<211> 8

<212> PRT

<

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 21

Gly Gly Ile Glu Gly Arg Gly Ser

1 5

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 22

Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu

1 5 10

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 23

Ala Gly Asn Arg Val Arg Arg Ser Val Gly

1 5 10

<210> 24

<211> 1506

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 24

```

ggatccgccg ccacatgaa gcacctgtgg tttttcctgc tgctggtggc cgccccagg      60
tgggttctga gccaggtgca gctgcagcag tccggccttg gcctggtgca gcctagcaga      120

acctgagcc tgacatgtgc catcagcggc gattccatct ccagcaatac cgctcctgg      180
aactggatca gacagagccc tagcaggggc ctggagtggg tgggcaagac agagtacaga      240
tccggctggt tcttcgagta cgccccctcc gtgggcggca gagtgaatat ctccccgat      300
acaagcaaga accagttcag cctgcagctg aatagcgtga cacctgagga tacagccgtg      360
tacttctcgc ccagggactc ctacaatgac tacgataacg acggtttga catctggggc      420
cagggcacac tggtgacagt gagcagcggc ggcggcggaa gcggaggagg aggatctggc      480
ggcggcggta gcggaggagg tggatctcag tccgtgctga cccagcccc cagcgtgtcc      540

gctgctcctg gacagaaggt gaccatcagc tgcagcggct cctcctccaa tatcggtcc      600
aactactggt cctggtacca gcagctgcc ggcacagccc ccaagctgct gatctacgac      660
accaacaaga ggcccagcgg catccccgat aggttttagcg gtcceaagag cggcacatcc      720
gccacctggt gcatcacgg cctgcagaca ggcgatgagg ccgactacta ctgtggcaca      780
tgggacagct ccctgagcgc cgaggtgttc ggcacaggca caaaggtgac cgtgctgatc      840
gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac      900
gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg      960

gtgctggtgg tgggtggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc      1020
atcatctttt ggtggaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt      1080
atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tctgaggag      1140
gaggaggcgc gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac      1200
caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac      1260
gtgctggata agaggagagg cagggacct gagatggcg gcaagcctag aagaaagaac      1320

```

ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

 atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aagggccacg atggcctgta ccagggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506
 <210> 25
 <211> 1506
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 25
 ggatccgccg ccacatgaa gcacctgtgg ttttcctgc tgctggtggc gcccctaga 60
 tgggtgctgt ccaggtgca gctgcagcag agcggcctg gcctggtgaa gcccagccag 120

 accctgtccc tgacctgccc catcagcggc gatagcgtga gcagcaactc cgccagctgg 180
 aattggatca ggcagtcccc cagcaggggc ctggagtggc tgggaaagac agagtacaga 240
 tccaagtgtt actacgagtt tgcccctagc gtgaagagca gaatcacat caccectgat 300
 accagcaaga accagttttc cctgcagctg aattccgtga cccctgagga caccgccctg 360
 tactactgcg tgagagactc ctacaacggc tacgattttg acggcttcga tatctggggc 420
 cagggcaccc tggtagacct gtccagcggc ggaggcggaa gcggaggagg aggaagcggc 480
 ggaggaggca gcggaggagg tggaaagccag agcgtgctga cacagcccc tagcgtgtcc 540

 gccgccccag gacaaaaggt gacaatcagc tgetccggct cctcctccaa tatcggcagc 600
 aactactgtg cctggtacca gcagctgcct ggcacagccc ccaagctgct gatctacgac 660
 accaataaga ggcctccgg catccccgat agattctccg gctccaagag cggcacatcc 720
 gccaccctgg geatcacagg cctgcagaca ggcgatgagg ccgactacta ctgtggcaca 780
 tgggattcct ccctgtccgc cgaggtgttt ggcaccggca caaaggtgac cgtgctgatc 840
 gaggtgatgt accccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gccttctgg 960

 gtgctggtgg tggtagggcg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt gggtagaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttta gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tctgaggag 1140

gaggaggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgctac 1200
 caacaggac agaatacagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg cagggaccct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 cccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506

<210> 26
 <211> 1506
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 26

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtgg tctttctgc tgctggtggc gcccctaga 60
 tgggtgctga gccaggtgca gctgcagcag tccggcctg gcctggtgaa gccttcccag 120

acactgtccc tgacatgtgc catcagcggc gactccgtgt tctcaatag cgccagctgg 180
 aattggatca gacagagccc ctccagaggc ctggagtggc tgggcaagac agagtacagg 240
 tccaagtgtt ttgacgagta cgccccagc gtgaagggca gaatcgccat cagacctgac 300
 acctcaaga accaggtgtc cctgcagctg aatagcgtga cccccagga caccgacctg 360
 tactactgtg tgagagatag ctacaacggc tacgatattg atggctttga catctggggc 420
 cagggcaccc tggtagacct gagctccggc ggaggcggaa gcggaggagg aggaagcggc 480
 ggaggcggta gcggaggagg tggaaagccag agcgtgctga cccagcctcc tagcgtgagc 540

gccgcccctg gacagcaggt gatcatctcc tgcagcggct ccagctcaa cgtgggcaat 600
 aactacgtgg cctggtacca gcaggtgcc ggcgctgctc ccaggctgct gatctacgac 660
 aactacaaga gacctccgg catccccgac aggttttccg gcagcaagtc cggcacctcc 720
 gccaccctgg gcatcaccgg actgcagagc ggcgacgagg ccgactacta ctgtggcagc 780
 tgggatagct ccctgagcgc cgaggtgttt ggcgcgggca ccaagctgac agccctgatc 840
 gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gccttctgg 960

gtgctggtgg tggtagggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
atcatctttt gggtagaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080
atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tcctgaggag 1140
gaggagggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt cgcgcgacgc ccccgcctac 1200
caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
gtgctggata agaggagagg cagggacct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440
tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
gtcgac 1506

<210> 27
<211> 1506
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<400> 27

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtg ttttctctgc tgctggtgac cgccccagg 60
tgggttctga gccaggtgca gctgcagcag tccggccctg gcctggtgaa gcctcccag 120

aactgagcc tgacatgac catctccgc gacagcgtgt tcagcaccac cgccagctgg 180
aattggatca gacagagccc cagcagaggc ctggagtggc tgggcaagac cgagtacagg 240
agcaagtggc tcgacgagta cgccccagc gtgaagggca ggatcgccat cagacctgac 300
acatccagaa atcaggtgag cctgcagctg aatagcatga caccgagga taccgacctg 360
tacttctgtg tgagagacag ctacaacggc tacgacttcg acggttcga catctggggc 420
cagggcacaa cagtgcagct gagctccggc ggcggcggct ctggaggagg aggatctggc 480
ggcggcggaa gcggaggagg aggttctcag agcgtggtga cacagcccc cagcgtgagc 540

gccgctcctg gacaaaaggt gaccatctcc tgetccggca gcagcagcaa catcggaat 600
aactacgtgt cctggtacca gcagctgcct ggcaccgcc ccaagctgct gatctacgac 660
aacaataaga ggccccagcg catcctgac agattctccg gctccaagag cggcacctcc 720
gccaccctgg gcatcacagg cctgcagaca ggcgacgagg ccgactacta ctgtggcaca 780
tgggatagct ccctgtccgc cgagatggtt ggcggcggca ccaaggtgac cgtgctgatc 840

gaggtgatgt accccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gccttctg 960

gtgctggtgg tgggtggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt gggatgaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tcctgaggag 1140
 gagggggcgg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac 1200
 caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg caggaccct gagatggcgg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506

<210> 28
 <211> 1506
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 28

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtgg ttttctctgc tgctggtggc gcccctagg 60
 tgggtgctga gccaggtgca gctgcagcag agcggccctg gcctggtgaa gcccagccag 120

accctgtccc tgacatgcgc catcagcggc gatagcgtgt ccagcaatag cgcctcctgg 180
 aattgataca gacagagccc tagcagaggc ctggagtggc tgggcaaggt ggagtacagg 240
 tccaagtggg acgatgagta cgccccctcc gtgaagagca gaatcgccat cagacctgac 300
 acatccaaga accaggtgag cctgcacctg atctccgtga cacctgatga tacagccgtg 360
 tactactcgc ccagggactc ctacaacggc cagccttcg atggcttga tgtgtggggc 420
 cagggcacac tggtagacct gtccagcggc ggcggcggat ctggaggagg aggaagcggc 480
 ggccgaggct ctggaggagg tggaaagccag tccgtgctga cccagcccc ctccgtgagc 540

gctgctccag gacagaaggt gacaatcagc tgetccggct ccagctccaa catcgcgat 600
 aatctggtga gctggtacca gcagctgcct ggcacagccc ctaagctgct gatctacgat 660

aacaataaga gaccctccgg catccccgac aggttcagcg gcagcaagtc cggcacctcc 720
 gccacactgg acatcacagg cctgcagacc ggcgacgagg ccgactacta ctgcgagagc 780
 tgggataaca acctgaccgc cgaggtgttc ggcaccggca caaaggtgac agtgctgatc 840
 gaggtgatgt accccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg 960

gtgctggtgg tgggtggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt ggggtgaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tctgaggag 1140
 gagggggcgg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac 1200
 caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg cagggaccct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aagggccacg atggcctgta ccagggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506

<210> 29

<211> 1506

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 29

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtgg ttcttctgc tgctggtggc cgtccccaga 60
 tgggtgctgt cccaggtgca gctgcagcag tccggccccg gactggtgaa gccttcccag 120
 acctgagcc tgacctgccc catcagcggc gactccgtgt ttagcaactc cgctcctgg 180
 aactggatca gacagtcccc ctccagaggc ctggagtggc tgggcaagac agagtacagg 240
 agcaagtggg ttgacgagta cgccccttcc gtgaagggca ggatcgccat cagaccgat 300
 acctccaaga atcaggtgag cctgcagctg aatagcgtga caccgagga caccgccgtg 360
 tactactgtg tgagagactc ctacaatggc tacgacttcg acggcttga catctggggc 420
 cagggcaccg tggtgaccgt gtccagcggc ggaggcggaa gcggaggagg aggaagcggc 480

ggaggaggct cggaggagg aggttcccag agcgtgctga cccagcccc tagcgtgagc 540

gccgctcctg gacagaaggt gaccatcagc tgctccggcg gctccagcaa catcgagaag 600

aactacgtga gctggtacca gcagetgcct ggcacagccc ctaagctgct gatctacgac 660

accaataaga ggcttagcgg catccccgac agattcagcg gctccaagtc cggcacaagc 720

gccacactgg gcatcaccgg cctgcagacc ggcgacgagg ccgattacta ctgtggcgcc 780

tgggataata tectgaactc cgagatgttc ggcggcggca caaagctgac agtgctgac 840

gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900

gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg 960

gtgctggtgg tggtagggcg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020

atcatctttt gggtagaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080

atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tectgaggag 1140

gaggaggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc cccgcctac 1200

caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260

tgctggata agaggagagg cagggacct gagatggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320

ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

atcggcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440

tccacagcca ccaaggacac atacgacgc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500

gtcgac 1506

<210> 30

<211> 1506

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 30

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctggtggc cgccccaga 60

tgggtgctga gccaggtgca gctgcagcag agcggcctg gcctggtgaa gccttcccag 120

acactgagcc tgacctgic catcagcggc gatagcgtgt ttagcaacag cgccagctgg 180

aattggatca ggcagagccc ttccaggggc ctggagtggc tgggcaagac cgagtacagg 240

tccaagtgtg tcgatgagta cgcccctagc gtgaagggca ggatcgcat caggcctgac 300

acctccaaga accaggtgtc cctgcagctg aattccgtga cacctgagga taccgccgtg 360
 tactactgcg tgagggttc ctacaacggc tacgacttcg acggcttga tatctggggc 420
 cagggcacac tggtgacagt gtccctccgc ggcggcggaa gcggaggagg aggatctggc 480
 ggcgccggtt ccggaggagg aggttctcag tccgtggtga cccagcctcc cagcgtgagc 540

gccgctcctg gacagaaggt gaccatcagc tntagcggca gtcctccaa catcggaac 600
 aactacgtgt cctggtacca gcagetgcc gccaccgcc caaagctgct gatctacgat 660
 aataataaga gaccttccgg catccccgat agattttccg gcagcaagag cggcacaagc 720
 gccaccctgg gcatcacagg cctgcagacc ggcgacgagg ccgattacta ctgcggcacc 780
 tgggatagca gcctgtccgc cgagggtttt ggcggcggca ccaagctgac cgtgctgac 840
 gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg 960

gtgctggtgg tggtagggcg cgtgctggct ttttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt ggtgaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tectgaggag 1140
 gaggaggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgctac 1200
 caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg cagggacct gagatggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 cccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgagc ctacagcgag 1380

atcgcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506

<210> 31

<211> 1506

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"

<400> 31

ggatccgcc ccacatgaa gcacctgtgg ttttctctgc tgctggtggc cgccccagg 60
 tgggttctgt cccaggtgca gctgcagcag agcggccccg gactggtgaa gccagccag 120

aactgagcc tgacatgga catctccggc gattccgtgt tctccaacac agccagctgg 180
 aattggatca ggcagagccc cagcaggggc ctggagtggc tgggaaagac agagtacaga 240
 tcccagtggc tgcacgagta cgccccctcc gtgagatcca ggatcgccat cagacccgac 300
 acctccaaga accaggtgtc cctgcagctg tccttcgtga cccccgagga caccgcccgtg 360
 tactactgtg tgagggattc ctacaatggc tacgccttcg atggctttga cacctggggc 420
 cagggcacc cagggtaccg gagcagcggc ggaggcggaa gcggaggagg aggaagcggc 480
 ggaggaggct ccggaggagg aggtagccag agcgtggtga cccagcccc cagcgtgtcc 540

 gctgctcctg gacagaaggt gaccatcagc tgttccggca ggaactcaa catcgccaac 600
 aactttgtgt ccigtacag acagctgcct ggcaccgccc ctaagctgct gatctacgac 660
 aataataaga ggcctagcgg catccccgat agattctccg gctccaagag cggcacatcc 720
 gccaccctgg ccatcaccgg cctgcagacc ggcgacgagg ccgattacta ctgcgagtcc 780
 tgggatagct ccctgaccgc cgaggtgttt ggcaccggca ccaaggtgac cgtgctgatc 840
 gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg 960

 gtgctggtgg tggtagggcg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt gggtagaagag gggcaggaag aagctgctgt acatcttta gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tctgaggag 1140
 gaggagggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc cccgcctac 1200
 caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg cagggaccct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 cccagggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

 atcgcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccaggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgc ctgcacatgc aggcctgcc ccaaggtga 1500
 gtcgac 1506
 <210> 32
 <211> 1506
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polynucleotide"
 <400> 32

ggatccgccg ccacatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctggtggc cgcccctagg 60
 tgggtgctga gccaggtgca gctgcagcag tccggcctg gcctggtgaa gcccagccag 120

 aactgagcc tgacctgtgc catctccggc gactccgtgt ccagcaacag cgcctcctgg 180
 aactggatca gacagtcccc tagcaggggc ctggagtggc tgggcaaggt ggagtacaga 240
 tccaagtgtg acgatgagta cgccccagc gtgaagagca gaatcgccat cagacctgac 300
 accagcaaga accaggtgtc cctgcacctg atcagcgtga cccctgatga cacagccgtg 360
 tactactgcg ccagagatag ctacaacggc cagcctttg atggctttga tgtgtggggc 420
 cagggcacia tggtgacctg gagctccggc ggccggcgat ctggaggagg aggaagcggc 480
 ggccggcggtt ctggaggagg tggaaagccag agcgtggtga cacagcctcc ctccgtgtcc 540

 gccgcccctg gacaaaaggt gaccatctcc tgcagcggca gcagcagcaa catcgcaat 600
 aactactgtt cctggtacca gcagctgcct ggccacagccc ccaagctgct gatctacgac 660
 aacaataaga ggcccagcgg catccccgac aggttctccg gctccaagtc cggcacctcc 720
 gccacactgg gcatcacagg cctgcagacc ggccgacgagg ccgactacta ctgtggcacc 780
 tgggattcca gctgagcgc cgaggtgttt ggccggcgga caaaggtgac agtgctgatc 840
 gaggtgatgt accccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac 900
 gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg 960

 tgctggtgg tgggtggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc 1020
 atcatctttt ggtggaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt 1080
 atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tectgaggag 1140
 gaggagggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac 1200
 caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac 1260
 gtgctggata agaggagagg cagggacctt gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac 1320
 cccagggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag 1380

 atcgcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccagggcctg 1440
 tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga 1500
 gtcgac 1506
 <210> 33
 <211> 1506
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 33

```

gatccgccg ccacatgaa gcacctgtgg ttttttctgc tgctggtggc cgccccaga    60
tgggtgctga gccaggtgca gctgcagcag tccggcctg gcctggtgaa gccttcccag    120

acactgtccc tgacctgccc catcagcggc gacagcgtga gcagcaattc cgccagctgg    180
aactggatca ggcagtcccc cagcaggggc ctggagtggc tgggaaaggt ggagtacagg    240
agcaagtggc acgacagta cccccccagc gtgaagagca gaatcgccat caggccccgac    300
acatccaaga atcaggtgag cctgcacctg atcagcgtga cccccgatga cacagcctg    360
tactactgcg ccagagactc ctacaacggc cacgccttcg acggctttga cgtgtggggc    420
cagggcacia tggtagacgt gagctccggc ggcggcggct ctggaggagg aggatctggc    480
ggcggcggaa gcggaggagg aggttctcag agcgtgctga cccagcccc tagcctgagc    540

gccgctctg gacagagagt gaccatcagc tgctccggca caacctcaa tatcgccaat    600
aatttcgtgt cctggtacca gcagctgtcc ggtccgccc ccaagctgct gatcaatgac    660
aataacaaga gacctccgg catccccgat aggttctccg gcagcaagtc cggcgcctcc    720
gccacactgg ccatcaccgg actgcagaca gaggacgagg ccgactacta ctgtggcgtg    780
tgggacaaca gctgaatgc cgaggtgttt ggcggcggca ccaaggtgac cgtgctgatc    840
gaggtgatgt aaaaaaaaa ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac    900
gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gcctagcaa gccttcttg    960

gtgctggtgg tggtagggcg cgtgctggct ttttacagcc tgctggtgac agtcgccttc    1020
atcatctttt ggtgaaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt    1080
atgaggcccc tgcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tectgaggag    1140
gaggaggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac    1200
caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac    1260
gtgctggata agaggagagg cagggacct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac    1320
ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgagc ctacagcgag    1380

atcgcatga agggcgagag aaggaggggc aaggccacg atggcctgta ccagggcctg    1440
tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga    1500
gtcgac                                             1506

```

<210> 34

<211> 1506

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 34

```

ggatccgccg ccaccatgaa gcacctgtgg ttttctctgc tgctggtggc cgcccctagg      60
tgggtgctgt cccaggtgca gctgcagcag tccggccccg gactggtgaa gccttcccag      120

accctgagcc tgacatgtgc catctccggc gacagcgtgt cctccaactc cgccagctgg      180
aactggatca ggcagtcccc ttccagaggc ctggagtggc tgggcaagac agagtacaga      240
agcaagtggg actacgagtt tgcccctagc gtgaagtcca gaatcaccat cacccccagc      300
accagcaaga atcagtttag cctgcagctg aatagcgtga cccctgagga tacagccgtg      360
tactactcgc tgagggatag ctacaacggc tacgacttcg acggctttga tatctggggc      420
cagggcacac tggtgaccgt gtccagcggc ggccggcggat ctggaggagg aggaagcggc      480
ggcggaggct ctggaggagg tggaagccag agcgtgctga cccagcccc tagcgtgagc      540

gccgctcctg gacagaaggt gacaatcagc tgctccggct ccagcagcaa catcggcagc      600
aattactgtg cctggtacca gcagctgcct ggccaccgcc ccaagctgct gatctacgac      660
acaacaaga ggcccagcgg catccctgac aggttcagcg gcagcaagag cggcaccagc      720
gccaccctgg gcatcaccgg actgcagaca ggccgacgagg ccgattacta ctgtggcacc      780
tgggactcca gcctgagcgc cgaggtgttt ggccacaggca caaaggtgac cgtgctgatc      840
gaggtgatgt acccccccc ctacctggac aatgagaagt ccaacggcac aatcatccac      900
gtgaagggca agcacctgtg tcccagcccc ctgtttcccg gccctagcaa gcccttctgg      960

gtgctggtgg tgggtggcgg cgtgctggct tgttacagcc tgctggtgac agtcgccttc     1020
atcatctttt ggggtgaagag gggcaggaag aagctgctgt acatctttaa gcagcccttt     1080
atgaggcccc tcagacaac ccaggaggag gacggctgta gctgcaggtt tectgaggag     1140
gaggagggcg gctgtgagct gagagtgaag ttcagcaggt ccgccgacgc ccccgcctac     1200
caacagggac agaatcagct gtacaatgag ctgaacctgg gcagaagaga ggagtacgac     1260
gtgctggata agaggagagg cagggaccct gagatgggcg gcaagcctag aagaaagaac     1320
ccccaggagg gcctgtacaa tgaactgcag aaggacaaga tggccgaggc ctacagcgag     1380

atcgcatga agggcgagag aaggaggggc aagggccacg atggcctgta ccagggcctg     1440
tccacagcca ccaaggacac atacgacgcc ctgcacatgc aggcctgcc cccaaggtga     1500

```

gtcgac

1506

<210> 35

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 35

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

 20 25 30

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

 35 40 45

Ser Ser Asn Thr Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg

 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Val Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gly Trp Phe Phe

65 70 75 80

Glu Tyr Ala Pro Ser Val Gly Gly Arg Val Asn Ile Ser Pro Asp Thr

 85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp

 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Asp Tyr Asp Asn

 115 120 125

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

 130 135 140

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

145 150 155 160

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

 165 170 175

Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 36

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 36

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val
 35 40 45

Ser Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg
 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Tyr
 65 70 75 80

Glu Phe Ala Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Thr Pro Asp Thr
 85 90 95

Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Asp Phe
 115 120 125

Asp Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

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

Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala
 165 170 175

Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn
 180 185 190

Ile Gly Ser Asn Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala
 195 200 205

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

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile
 225 230 235 240

Thr Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp
 245 250 255

Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr
 260 265 270

Val Leu Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys
 275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser
 290 295 300

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val
 305 310 315 320

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 325 330 335

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365

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

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 325 330 335

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 38

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 38

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

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

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

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

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

Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr
 260 265 270

Val Leu Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys
 275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser
 290 295 300

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val
 305 310 315 320

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 325 330 335

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 39

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 39

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Gly Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp

65 70 75 80

Glu Tyr Ala Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn

180 185 190

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

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 40

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 40

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val
 35 40 45

Phe Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg
 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Phe Asp
 65 70 75 80

Glu Tyr Ala Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr
 85 90 95

Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Asp Phe
 115 120 125

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

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 325 330 335

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 42

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 42

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

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

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

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

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

Asp Ser Ser Leu Thr Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr
 260 265 270

Val Leu Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys
 275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser
 290 295 300

Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val
 305 310 315 320

Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile
 325 330 335

Ile Phe Trp Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
 340 345 350

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
 355 360 365

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu Arg Val
 370 375 380

Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn
 385 390 395 400

Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val
 405 410 415

Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg
 420 425 430

Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys
 435 440 445

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 43

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 43

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg

50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Gly Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp

65 70 75 80

Glu Tyr Ala Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr

85 90 95

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

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala

165 170 175

Ala Pro Gly Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn

180 185 190

Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala

Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg
 450 455 460

Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys
 465 470 475 480
 Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
 485 490

<210> 44

<211> 494

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 44

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
 1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
 20 25 30

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val
 35 40 45

Ser Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg
 50 55 60

Gly Leu Glu Trp Leu Gly Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp
 65 70 75 80

Glu Tyr Ala Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr
 85 90 95

Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu His Leu Ile Ser Val Thr Pro Asp Asp
 100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe
 115 120 125

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

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn Tyr Val Ala

1 5 10

<210> 47

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 47

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 48

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

1 5 10

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 49

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Glu Lys Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 50

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 50
 Ser Gly Arg Asn Ser Asn Ile Ala Asn Asn Phe Val Ser
 1 5 10

<210> 51
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 51
 Ser Gly Thr Thr Ser Asn Ile Ala Asn Asn Phe Val Ser
 1 5 10

<210> 52
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 52
 Asp Thr Asn Lys Arg Pro Ser
 1 5

<210> 53
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 53

Asp Asn Tyr Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 54

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 55

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Val

1 5 10

<210> 56

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 56

Gly Ser Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Val

1 5 10

<210> 57

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 57

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Glu Met

1 5 10

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 58

Glu Ser Trp Asp Asn Asn Leu Thr Ala Glu Val

1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 59

Gly Ala Trp Asp Asn Ile Leu Asn Ser Glu Met

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 60

Glu Ser Trp Asp Ser Ser Leu Thr Ala Glu Val

1 5 10

<210> 61

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 61

Gly Val Trp Asp Asn Ser Leu Asn Ala Glu Val

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 62

Ser Asn Thr Ala Ser Trp Asn

1 5

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 63

Ser Asn Ser Ala Ser Trp Asn

1 5

<210> 64

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 64

Ser Thr Thr Ala Ser Trp Asn

1 5

<210> 65

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 65

Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gly Trp Phe Phe Glu Tyr Ala Pro Ser Val

1 5 10 15

Gly Gly

<210> 66

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"
<400> 66
Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Tyr Glu Phe Ala Pro Ser Val
1 5 10 15
Lys Ser

<210> 67
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 67
Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Phe Asp Glu Tyr Ala Pro Ser Val
1 5 10 15
Lys Gly

<210> 68

<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 68
Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp Glu Tyr Ala Pro Ser Val
1 5 10 15
Lys Ser

<210> 69
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 69

Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gln Trp Leu His Glu Tyr Ala Pro Ser Val

1 5 10 15

Arg Ser

<210> 70

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 70

Asp Ser Tyr Asn Asp Tyr Asp Asn Asp Gly Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 71

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 71

Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Asp Phe Asp Gly Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 72

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 72

Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe Asp Gly Phe Asp Val

1 5 10

<210> 73

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 73

Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Ala Phe Asp Gly Phe Asp Thr

1 5 10

<210> 74

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 74

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

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Thr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
 85 90 95

Ser Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 75

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 75

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Gln Val Ile Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Val Gly Asn Asn
 20 25 30

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

Ser Ala Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Ala Leu
 100 105 110

<210> 76

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 76

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

 20 25 30

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

 35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu

 85 90 95

Ser Ala Glu Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val

 100 105

<210> 77

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 77

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

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asp Asn

 20 25 30

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

 35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

 50 55 60

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 79

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Arg Asn Ser Asn Ile Ala Asn Asn
 20 25 30

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

Thr Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 80

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 80

Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30

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

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

Ser Ala Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 81

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 81

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Thr Ser Asn Ile Ala Asn Asn
 20 25 30

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

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

Asn Ala Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 82

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Arg

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Asn

 20 25 30

Thr Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu

 35 40 45

Trp Val Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gly Trp Phe Phe Glu Tyr Ala

 50 55 60

Pro Ser Val Gly Gly Arg Val Asn Ile Ser Pro Asp Thr Ser Lys Asn

65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

 85 90 95

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Asp Tyr Asp Asn Asp Gly Phe

 100 105 110

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

 115 120 125

<210> 83

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 83

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

1 5 10 15

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

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

<210> 84

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 84

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 86

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

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

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 87

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 87

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Asp Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Asn
 20 25 30

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

Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Ala Phe Asp Gly Phe
 100 105 110
 Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 88

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 88

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

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

Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp Glu Tyr Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Val Ser Leu His Leu Ile Ser Val Thr Pro Asp Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 89

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 89

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Ile Ser Ser Asn
 20 25 30

Thr Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Val Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gly Trp Phe Phe Glu Tyr Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Gly Gly Arg Val Asn Ile Ser Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Asp Tyr Asp Asn Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

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

Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly
 145 150 155 160

Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser
 165 170 175

Asn Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 180 185 190

Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
 195 200 205

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu
 210 215 220

Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Ser Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 245 250 255

<210> 90

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 90

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

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

Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Tyr Glu Phe Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Thr Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Asp Phe Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

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

Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly
 145 150 155 160

Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser
 165 170 175

Asn Tyr Val Ala Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 180 185 190

Leu Ile Tyr Asp Thr Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
 195 200 205

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu
 210 215 220

Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Ser Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 245 250 255

<210> 91

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 91

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Asn

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 92

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Thr
 20 25 30

Thr Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Phe Asp Glu Tyr Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Lys Gly Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr Ser Arg Asn
 65 70 75 80

Gln Val Ser Leu Gln Leu Asn Ser Met Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Phe Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Asp Phe Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

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

Ser Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly
 145 150 155 160

Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn
 165 170 175

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 180 185 190

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

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

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

<210> 94
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 94
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Asn
 20 25 30
 Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Phe Asp Glu Tyr Ala
 50 55 60

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Asn
 20 25 30

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

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

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

Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser
 225 230 235 240
 Leu Ser Ala Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

245 250 255

<210> 96

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 96

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Asp Ile Ser Gly Asp Ser Val Phe Ser Asn
 20 25 30

Thr Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Thr Glu Tyr Arg Ser Gln Trp Leu His Glu Tyr Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Arg Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Val Ser Leu Gln Leu Ser Phe Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Tyr Cys Val Arg Asp Ser Tyr Asn Gly Tyr Ala Phe Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125

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

Ser Gln Ser Val Val Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly
 145 150 155 160

Gln Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Arg Asn Ser Asn Ile Ala Asn
 165 170 175

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

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 210 215 220

Gln Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Glu Ser Trp Asp Ser Ser
 225 230 235 240

Leu Thr Ala Glu Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 245 250 255

<210> 97

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 97

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

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

Ser Ala Ser Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45

Trp Leu Gly Lys Val Glu Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asp Glu Tyr Ala
 50 55 60

Pro Ser Val Lys Ser Arg Ile Ala Ile Arg Pro Asp Thr Ser Lys Asn
 65 70 75 80

Gln Val Ser Leu His Leu Ile Ser Val Thr Pro Asp Asp Thr Ala Val
 85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Ser Tyr Asn Gly His Ala Phe Asp Gly Phe
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

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

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ala Pro Gly
 145 150 155 160
 Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Thr Ser Asn Ile Ala Asn
 165 170 175

Asn Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Ser Gly Ser Ala Pro Lys Leu
 180 185 190
 Leu Ile Asn Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
 195 200 205
 Ser Gly Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 210 215 220
 Gln Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Val Trp Asp Asn Ser
 225 230 235 240

Leu Asn Ala Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 245 250 255

<210> 99

<211> 39

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
 <400> 99
 Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser Asn
 1 5 10 15
 Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro Leu
 20 25 30

Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro
 35

<210> 100
 <211> 27
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"

<400> 100
 Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
 1 5 10 15
 Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val
 20 25

<210> 101
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"

<400> 101
 Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly
 1 5 10 15
 Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
 20 25 30
 Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 103

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 104

<211> 57

<

212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"

<400> 104

atgaaacacc tgtggttctt ctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt cctgtcc 57

<210> 105

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 105

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40