

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0045980

(43) 공개일자 2022년04월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 5/0783 (2010.01) **A61K 35/17** (2014.01)
C07K 16/28 (2006.01)
 (52) CPC특허분류
C12N 5/0636 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
 (21) 출원번호 10-2022-7008249
 (22) 출원일자(국제) 2020년08월14일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2022년03월11일
 (86) 국제출원번호 PCT/GB2020/051956
 (87) 국제공개번호 WO 2021/032961
 국제공개일자 2021년02월25일
 (30) 우선권주장
 1911799.3 2019년08월16일 영국(GB)
 (뒷면에 계속)

(71) 출원인
감마델타 테라퓨틱스 리미티드
 영국, 더블유12 7에프큐 런던, 화이트 시티 플레
 이스, 우드 레인 195, 웨스트웍스
 (72) 발명자
버거호프, 카타리나
 영국, 더블유12 7에프큐 런던, 화이트 시티 플레
 이스, 우드 레인 195, 웨스트웍스 감마델타 테라
 퓨틱스 리미티드
플라코바, 옥사나
 영국, 더블유12 7에프큐 런던, 화이트 시티 플레
 이스, 우드 레인 195, 웨스트웍스 감마델타 테라
 퓨틱스 리미티드
누스바우머, 올리버
 영국, 더블유12 7에프큐 런던, 화이트 시티 플레
 이스, 우드 레인 195, 웨스트웍스 감마델타 테라
 퓨틱스 리미티드
 (74) 대리인
이철희

전체 청구항 수 : 총 46 항

(54) 발명의 명칭 **체외 감마 델타 T 세포 집단****(57) 요약**

본 발명은 항-Vδ1 항체 또는 이의 단편을 사용하여 Vδ1 T 세포를 조절하는 체외 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/2809 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/34 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
C12N 2501/2302 (2013.01)
C12N 2501/2304 (2013.01)
C12N 2501/2315 (2013.01)
C12N 2501/2321 (2013.01)
C12N 2501/998 (2013.01)

(30) 우선권주장

2010760.3 2020년07월13일 영국(GB)
2012172.9 2020년08월05일 영국(GB)

명세서

청구범위

청구항 1

V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단에,

(i) 서열번호: 1의 3-20 ; 및/또는

(ii) 서열번호: 1의 37-77

의 아미노산 영역 내에 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는,

$\gamma\delta$ T 세포 수용체(TCR)의 가변 델타 1(V δ 1) 사슬의 에피토프에 결합하는 인간 항-TCR 델타 가변 1(항-V δ 1) 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는 V δ 1 T 세포를 조절하는 체외 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역: 5-20 및 62-77; 50-64; 37-53 및 59-72; 59-77; 또는 3-17 및 62-69를 포함하는 방법.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

상기 에피토프는 $\gamma\delta$ T 세포의 활성화 에피토프인 방법 .

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

$\gamma\delta$ TCR의 V δ 1 사슬의 V 영역의 에피토프에만 결합하는 방법.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

$\gamma\delta$ TCR의 V δ 1 사슬의 CDR3에서 발견되는 에피토프에 결합하지 않는 방법.

청구항 6

V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단에,

서열 번호: 2-25 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3;

서열 번호: 26-37 및 표 2의 서열 A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는

서열 번호 38-61 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1,

중 하나 이상을 포함하는 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는 V δ 1 T 세포를 조절하는 체외 방법.

청구항 7

제 6 항 에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-73 중 어느 하나, 예를 들어 서열번호: 63, 62 또는 64와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함하는 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 74-85 중 어느 하나, 예를 들어 서열번호: 75, 74 또는 76과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함하는 방법.

청구항 9

제 6 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86-97 중 어느 하나, 예를 들어 서열 87, 86 또는 88의 아미노산 서열을 포함하는 방법.

청구항 10

제 6 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 제 6 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에서 정의된 항체 또는 이의 단편과 동일하거나 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하거나 이와 경쟁하는 것인 방법.

청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 1.5×10^{-7} M 미만의 결합 친화도(KD)로 $\gamma \delta$ T 세포 수용체(TCR)의 가변 델타 1(V δ 1) 사슬에 결합하는 방법.

청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체 또는 이의 단편은 scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 가변 도메인(예를 들어, VH 또는 VL), 디아바디, 미니바디 또는 전장 항체인 방법.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 조절은 V δ 1 T 세포의 증식을 포함하는 방법.

청구항 14

제 13 항에 있어서,

상기 방법은 약 85% 초과 Vδ1 T 세포, 예를 들어 약 90% 초과 Vδ1 T 세포를 함유하는 Vδ1 T 세포의 증식된 집단을 제공하는 방법.

청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 세포 집단을 5일 이상 동안 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 하나 이상의 사이토카인의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 17

제 16 항에 있어서,

상기 사이토카인이 인터루킨-2 (IL-2), 인터루킨-4 (IL-4), 인터루킨-7 (IL-7), 인터루킨-9 (IL-9), 인터루킨-12 (IL-12), 인터루킨-15 (IL-15), 인터루킨-21 (IL-21) 또는 이들의 혼합물로부터 선택되는 방법.

청구항 18

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 IL-2, IL-9 및/또는 IL-15의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 19

제 1 항 내지 제 18 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 IL-21의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 IL-4의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 21

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 방법은 IL-4를 포함하는 제1 배양 배지에서 세포 집단을 배양한 후, IL-15를 포함하는 제2 배양 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 22

제 21 항에 있어서,
상기 제1 배양 배지에는 IL-15, IL-2 및/또는 IL-7가 없는 방법.

청구항 23

제 21 항에 있어서,
상기 제2 배양 배지에는 IL-4가 없는 방법.

청구항 24

제 21 항 내지 제 23항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 제1 또는 제2 배양 배지, 또는 두 배양 배지 모두는 하나 이상의 추가 사이토카인을 포함하는 방법.

청구항 25

제 24 항에 있어서,
상기 추가 사이토카인이 IL-21, IFN- γ 및 IL-1 β 로 이루어진 군으로부터 선택되는 방법.

청구항 26

제 15 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 세포 집단은 배양 동안 기질 및/또는 상피 세포와 직접 접촉하지 않는 방법.

청구항 27

제 26 항에 있어서,
상기 세포 집단은 배양 동안 섬유아세포와 직접 접촉하지 않는 방법.

청구항 28

제 15 항 내지 제 27항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 세포 집단은 배양 동안 종양 세포 및/또는 영양 세포와 직접 접촉하지 않는 방법.

청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서,
상기 방법은 무혈청 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함하는 방법.

청구항 30

제 1 항 내지 제 29 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 상기 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 T 세포에 대해 농축되는 방법.

청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 상기 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 $\gamma \delta$ T 세포에 대해 농축되는 방법.

청구항 32

제 1 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 상기 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 $\alpha \beta$ T 세포 또는 NK 세포가 고갈되는 방법.

청구항 33

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 조혈 시료 또는 그의 분획으로부터 수득되는 방법.

청구항 34

제 33 항에 있어서,

상기 조혈 시료는 말초 혈액, 제대혈, 림프 조직, 흉선, 골수, 림프절 조직 또는 이의 분획으로부터 선택되는 방법.

청구항 35

제 33 항 또는 제 34 항에 있어서,

상기 조혈 시료는 저밀도 단핵 세포(LDMC) 또는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로 이루어지는 방법.

청구항 36

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 비-조혈 조직 시료, 예를 들어 피부, 결장, 장, 유선, 폐, 전립선, 간, 비장, 췌장, 자궁, 질 또는 기타 피부, 점막 또는 장액막 시료로부터 수득되는 방법.

청구항 37

제 36 항에 있어서,

상기 세포 집단은 비-조혈 조직 시료로부터의 세포 배출을 촉진하도록 구성된 합성 스캐폴드 상에서 비-조혈 조직 시료를 배양하는 것에 의해 비-조혈 조직 시료로부터 수득되는 방법.

청구항 38

제 1 항 내지 제 37 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 암 조직 시료로부터 획득되는 방법.

청구항 39

제 1 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 인간 또는 비인간 동물 조직으로부터 획득되는 방법.

청구항 40

제 39 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하기 전에 시료로부터 분리되는 방법.

청구항 41

제 1 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 정의된 채외 방법에 의해 획득된 V δ 1 T 세포 집단 .

청구항 42

제 41 항에 정의된 V δ 1 T 세포 집단을 포함하는 조성물.

청구항 43

제 41 항에 정의된 V δ 1 T 세포 집단을 포함하는 약학 조성물.

청구항 44

제 43 항에 있어서,

약제로서 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 45

제 43 항에 있어서,

암, 감염성 질환 또는 염증성 질환의 치료에 사용하기 위한 약학 조성물.

청구항 46

제 41 항에 정의된 V δ 1 T 세포 집단 또는 제 43 항에 정의된 약학 조성물의 치료학적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환을 치료하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 항-TCR 델타 가변 1(항-V δ 1) 항체와 접촉된 감마 델타 T 세포 집단에 관한 것이다.

[0002]

배경 기술

- [0003] 암에 대한 T 세포 면역요법에 대해 증가하는 관심은 특히 PD-1, CTLA-4 및 기타 수용체에 의해 발휘되는 억제 경로의 임상적으로 매개되는 길항작용에 의해 탈-억제될 때 암세포를 인식하고 숙주를 보호하는 기능적 잠재력을 매개하는 CD8+ 및 CD4+ $\alpha\beta$ T 세포 서브세트의 명백한 능력에 초점이 맞춰져 왔다. 그러나, $\alpha\beta$ T 세포는 MHC-제한적이며, 이는 이식편대숙주질환(graft versus host disease)을 야기할 수 있다.
- [0004] 감마 델타 T 세포($\gamma\delta$ T 세포)는 표면에 독특하고, 뚜렷한 $\gamma\delta$ T 세포 수용체(TCR)를 발현하는 T 세포의 서브 세트이다. TCR은 하나의 감마(γ)와 하나의 델타(δ) 사슬로 구성되며, 이들 각각은 사슬 재배열을 거치지만 $\alpha\beta$ T 세포에 비해 제한된 수의 V 유전자를 갖는다. V γ 를 암호화하는 주된 TGRV 유전자 절편은 TRGV2, TRGV3, TRGV4, TRGV5, TRGV8, TRGV9 및 TRGV11와 비-기능성 유전자 TRGV10, TRGV11, TRGVA 및 TRGVB이다. 가장 빈번한 TRDV 유전자 절편은 V δ 1, V δ 2 및 V δ 3과 함께, V δ 와 V α 식별을 모두 갖는 여러 V 절편을 암호화한다(Adams et al., 296:30-40 (2015) Cell Immunol.). 인간 $\gamma\delta$ T 세포는 특정 γ 및 δ 유형이 하나 이상의 조직 유형에서 배타적이지는 않더라도 더 우세하게 발현되기 때문에, TCR 사슬을 기준으로 대략적으로 분류될 수 있다. 예를 들어, 대부분의 혈액 상주 $\gamma\delta$ T 세포는 V δ 2 TCR, 일반적으로 V γ 9V δ 2를 발현하는 반면, 이는 감마 사슬과 쌍을 이루는 V δ 1 TCR을 더 자주 사용하는 피부에서와 같은 조직-상재 $\gamma\delta$ T 세포에서는 덜 일반적이며, 예를 들어 장에서는 종종 V γ 4와 쌍을 이룬다.
- [0005] 면역요법을 위해 $\gamma\delta$ T 세포를 활용하려면 원래의 위치에서 세포를 증식하거나, 세포를 수집하고 재주입하기에 앞서 체외에서 증식하는 방법이 필요하다. 후자의 접근법은 종래 외인성 사이토카인의 첨가를 이용하여 기술되었으며, 예를 들어 W02017/072367 및 W02018/212808을 참조할 수 있다. 환자 자신의 $\gamma\delta$ T 세포를 증식하는 방법은 약리학적으로 변형된 형태의 HMBPP(hydroxy-methyl but-2-enyl pyrophosphate) 또는 임상적으로 승인된 아미노비스포스포네이트(aminobisphosphonate)를 사용하여 설명되었다. 이러한 접근 방식을 통해 250명 이상의 암 환자가 걸보기에는 안전하게 치료를 받았으나, 완전한 관해가 된 경우는 극히 드물었다. 그러나, 많은 수의 $\gamma\delta$ T 세포를 증식시키는 입증된 능력을 갖는 활성화제가 여전히 요구된다.

발명의 내용

- [0006] 본 발명의 첫 번째 양태에 따르면, V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단에,
- [0007] (i) 서열번호: 1의 3-20 ; 및/또는
- [0008] (ii) 서열번호: 1의 37-77
- [0009] 의 아미노산 영역 내에 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는,
- [0010] $\gamma\delta$ T 세포 수용체(TCR)의 가변 델타 1(V δ 1) 사슬의 에피토프에 결합하는 인간 항-TCR 델타 가변 1(항-V δ 1) 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는 V δ 1 T 세포를 조절하는 체외 방법이 제공된다.
- [0011] 본 발명의 다른 양태에 따르면, V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단에,
- [0012] 서열 번호: 2-25 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3;
- [0013] 서열 번호: 26-37 및 표 2의 서열 A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는
- [0014] 서열 번호 38-61 중 어느 하나와 80% 이상의 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1,
- [0015] 중 하나 이상을 포함하는 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는 V δ 1 T 세포를 조절하는 체외 방법이 제공된다.
- [0016] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 체외 방법에 의해 수득되는 V δ 1 T 세포 집단이 제공된다.
- [0017] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 V δ 1 T 세포 집단을 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0018] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 V δ 1 T 세포 집단을 포함하는 약학 조성물이 제공된다.
- [0019] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 이를 필요로 하는 대상에서 치료적 유효량의 V δ 1 T 세포 집단 또는 본 명세서에 정의된 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환의 치료 방법이 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0020]

도 1: 항-V δ 1Ab(REA173, Miltenyi Biotec)로 직접 코팅된 항원의 ELISA 검출. V δ 1 도메인을 포함하는 항원에 서만 검출이 보여졌다. 류신 지퍼(LZ, Leucine zipper) 형태는 세포-기반 플로우 경쟁 분석과 부합하는 Fc 형태보다 더 강력한 것으로 보인다(데이터 미도시).

도 2: DV1 선택을 위한 다클론 파지 DELFIA 데이터. A) 이중이량체 선택: 라운드 1 및 2에서 이중이량체인 LZ TCR 형태와, 두 라운드 모두에서 이중이량체인 LZ TCR에 대한 선택 해제 B) 동중이량체 선택: 인간 IgG1 Fc에 대한 선택 해제와 함께 동중이량체인 Fc 융합 TCR을 사용하여 라운드 1을 수행한 후 이중이량체인 LZ TCR에 대한 선택 해제와 함께 이중이량체인 LZ TCR에 대해 라운드 2를 수행하였다. 각 그래프는 다른 라이브러리로부터의 선택을 나타내는 각 타겟에 대한 두 개의 막대를 포함한다.

도 3: IgG 캡처: 좌) 항-L1 IgG와 L1의 상호작용의 센서그램, 우) 정상 상태 핏(가능한 경우). 모든 실험은 MASS-2 기기에서 상온에서 수행되었다. 정상 상태의 핏은 랭뮤어(Langmuir) 1:1 결합을 따른다.

도 4 : (A) 클론 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 및 1251_P02_C05 또는 (B) 클론 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09, 1251_P02_G10 및 1252_P01_C08에 대한 TCR 하향 조절 분석 결과.

도 5 : (A) 클론 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 및 1251_P02_C05 또는 (B) 클론 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09 및 1251_P02_G10에 대한 T 세포 탈과립 분석 결과.

도 6 : (A) 클론 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 및 1251_P02_C05 또는 (B) 클론 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09 및 1251_P02_G10에 대한 사멸 분석 (THP-1 플로우 기반 분석) 결과.

도 7: 1245_P01_E07에 대한 에피토프 매핑 데이터. 서열번호: 1에서 1245_P01_E07의 에피토프 결합 부위를 나타낸 도면.

도 8: 1252_P01_C08에 대한 에피토프 매핑 데이터. 서열번호: 1에서 1252_P01_C08의 에피토프 결합 부위를 나타낸 도면.

도 9: 1245_P02_G04에 대한 에피토프 매핑 데이터. 서열번호: 1에서 1245_P02_G04의 에피토프 결합 부위를 나타낸 도면.

도 10: 1251_P02_C05에 대한 에피토프 매핑 데이터. 서열번호: 1에서 1251_P02_C05의 에피토프 결합 부위를 나타낸 도면.

도 11: 1141_P01_E01에 대한 에피토프 매핑 데이터. 서열번호: 1에서 1141_P01_E01의 에피토프 결합 부위를 나타낸 도면.

도 12: 실시예 10의 실험 1 동안의 총 세포 수. 시료를 본 명세서에 기재된 다양한 농도의 항-V δ 1 항체와 함께 배양하고 비교 항체와 함께 배양한 시료 또는 대조군과 비교하였다. 그래프는 (A) 7일, (B) 14일 및 (C) 18일에서 총 세포 수를 보여준다.

도 13: 실시예 10의 실험 1 동안의 V δ 1 T 세포의 분석. 그래프는 18일째 시료에서 (A) V δ 1 T 세포의 백분율, (B) V δ 1 T 세포 수 및 (C) V δ 1 배수 변화를 보여준다.

도 14: 실시예 10의 실험 2 동안의 총 세포 수. 시료를 본 명세서에 기재된 다양한 농도의 항-V δ 1 항체와 함께 배양하고 비교 항체와 함께 배양한 시료 또는 대조군과 비교하였다. 그래프는 (A) 7일, (B) 14일 및 (C) 17일에서 총 세포 수를 보여준다.

도 15: 실시예 10의 실험 2 동안의 V δ 1 T 세포의 분석. 그래프는 17일째 시료에서 (A) V δ 1 T 세포의 백분율, (B) V δ 1 T 세포 수 및 (C) V δ 1 배수 변화를 보여준다.

도 16: 세포 조성 분석. 시료에 존재하는 세포 유형(비-V δ 1 세포 포함)을 실험 2의 17일째에 측정하였다. 세포를 수집하고 V δ 1, V δ 2 및 $\alpha\beta$ TCR의 표면 발현에 대해 유세포 분석에 의해 분석하였다. 백분율 값 또한 표 6에 기재하였다.

도 17: SYTOX-플로우 사멸 분석 결과. SYTOX-플로우 사멸 분석을 사용하여 세포의 기능성을 검사하고, 결과를 (A) 작동체 대 표적(E:T) 비율이 10:1인 세포를 사용한 14일째의 실험 1 및 (B) E:T 비율이 1:1 및 10:1인 세포를 사용한 17일째(동결-해동 후) 실험 2에 대해 나타내었다.

도 18: 동결-해동 후 총 세포 수. 그래프는 동결 전에 B07, C08, E07, G04 또는 OKT-3 항체와 접촉된 배양물에 대해, 동결-해동 후 세포 배양 7일 후의 총 세포 수를 보여준다.

도 19: 세포 증식 모니터링. 동결-해동 후 배양된 세포에 대해 42일까지 총 세포 수를 모니터링하였다.

도 20: 항-V δ 1 항체는 인간 종양에서 종양-침윤-림프구(TIL, tumour-infiltrating-lymphocyte)가 조절 및 증식되도록 하였다. 신장 세포 암종(RCC, renal cell carcinoma) +/- 항체에 대한 연구 A) TIL V δ 1+ 세포에서의 배수 증가. B) TIL V δ 1+ 세포의 총 수. C) 게이팅 전략의 예. D) TIL V δ 1+ 세포의 상대적인 세포-표면 표현형 프로파일. E) TIL V δ 1-음성 게이트 분획의 분석.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] 정의

[0022] 별도로 정의되지 않는 한, 본 명세서에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 의미를 갖는다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 다음 용어는 하기에 부여된 의미를 갖는다.

[0023] 감마 델타 T 세포($\gamma\delta$ T 세포)는 표면에 독특하고, 뚜렷한 $\gamma\delta$ T 세포 수용체(TCR)를 발현하는 T 세포의 서브 세트이다. TCR은 하나의 감마(γ)와 하나의 델타(δ) 사슬로 구성된다. 각 사슬은 가변(V) 영역, 불변(C) 영역, 막횡단 영역 및 세포질 미부(cytoplasmic tail)를 포함한다. V 영역은 항원 결합 부위를 포함한다. 인간 $\gamma\delta$ T 세포에는 두 가지 주요 하위-유형이 있다: 하나는 말초혈액에서 우세하고 다른 하나는 비-조혈조직에서 우세하다. 두 가지 하위-유형은 세포에 존재하는 δ 및/또는 γ 의 유형에 의해 정의될 수 있다. 예를 들어, 말초혈액에서 우세한 $\gamma\delta$ T 세포는 주로 델타 가변 2 사슬(V δ 2)을 발현한다. 비-조혈조직에서 우세한(즉, 조직에 상재하는) $\gamma\delta$ T 세포는 주로 델타 가변 1(V δ 1) 사슬을 발현한다. "V δ 1 T 세포"라고 하는 것은 V δ 1 사슬을 갖는 $\gamma\delta$ T 세포, 즉 V δ 1⁺ T 세포를 의미한다.

[0024] "델타 가변 1"이라 함은 또한 V δ 1 또는 Vd1로도 지칭될 수 있는 한편, 이 영역을 포함하는 TCR 사슬을 암호화하는 뉴클레오티드는 "TRDV1"으로 지칭될 수 있다. $\gamma\delta$ TCR의 V δ 1 사슬과 상호작용하는 항체 또는 이의 단편은 모두 V δ 1에 결합하는 효과적인 항체 또는 이의 단편이며 "항-TCR 델타 가변 1 항체 또는 이의 단편" 또는 "항-V δ 1 항체 또는 그 단편"을 지칭한다.

[0025] 본 명세서에서 추가적인 지칭이 "델타 가변 2" 사슬과 같은 다른 델타 사슬에도 적용된다. 유사한 방식으로 지칭될 수 있다. 예를 들어, 델타 가변 2 사슬은 V δ 2로 지칭될 수 있는 한편, 이 영역을 포함하는 TCR 사슬을 암호화하는 뉴클레오티드는 "TRDV2"로 지칭될 수 있다. 바람직한 실시예에서 $\gamma\delta$ TCR의 V δ 1 사슬과 상호작용하는 항체 또는 이의 단편은 V δ 2와 같은 다른 델타 사슬과 상호작용하지 않는다.

[0026] '감마 가변 사슬'에 대한 언급도 본 명세서에서 이루어진다. 이들은 γ -사슬 또는 V γ 로 지칭될 수 있는 한편, 이 영역을 포함하는 TCR 사슬을 암호화하는 뉴클레오티드는 TRGV로 지칭될 수 있다. 예를 들어, TRGV4는 V γ 4 사슬을 지칭한다. 바람직한 실시예에서, $\gamma\delta$ TCR의 V δ 1 사슬과 상호작용하는 항체 또는 이의 단편은 V γ 4와 같은 감마 사슬과 상호작용하지 않는다.

[0027] 용어 "항체"는 하나 이상의 항원 결합 부위(ABS)를 포함하는 하나 이상의 항체 가변 도메인을 포함하는 모든 항체 단백질 구조물을 포함한다. 항체는 IgA, IgG, IgE, IgD, IgM 유형(및 이들의 하위유형)의 면역글로불린을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 두 개의 동일한 중(H)-사슬 및 두 개의 동일한 경(L)-사슬 폴리펩타이드로부터 조립된 면역글로불린 G(IgG) 항체의 전체 구조는 포유동물에서 잘 확립되어 있고 고도로 보존되어 있다(Padlan (1994) Mol. Immunol. 31:169 -217).

[0028] 통상적인 항체 또는 면역글로불린(Ig)은 네 개의 폴리펩타이드 사슬, 즉 두 개의 중(H) 사슬 및 두 개의 경(L) 사슬을 포함하는 단백질이다. 각 사슬은 불변 영역과 가변 영역으로 나뉘어진다. 중(H) 사슬 가변 도메인은 본 명세서에서 VH로 약칭되며, 경(L) 사슬 가변 도메인은 본 명세서에서 VL로 약칭된다. 이들 도메인, 이와 관련된 도메인 및 이로부터 유래된 도메인은 본 명세서에서 면역글로불린 사슬 가변 도메인으로 지칭될 수 있다. VH 및 VL 도메인(VH 및 VL 영역으로도 지칭됨)은 "프레임워크 영역"("FR")이라고 하는 더 보존된 영역이 산재되

어 있는 "상보성 결정 영역"("CDR")이라고 하는 영역으로 더욱 세분화될 수 있다. 프레임워크 및 상보성 결정 영역은 명확하게 정의되어져 있다(Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition U.S. Department of Health and Human Services, (1991) NIH Publication Number 91-3242). 예를 들어 Chothia et al. (1989) Nature 342: 877-883에 발표된 것과 같이 CDR 서열에 대한 대체 넘버링 규칙도 있다. 통상적인 항체에서, 각각의 VH 및 VL은 아미노 말단에서 카르복시 말단까지 FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4의 순서로 배열된 세 개의 CDR과 네 개의 FR로 구성된다. 두 개의 면역글로불린 중 사슬 및 두 개의 면역글로불린 경 사슬의 통상적인 항체 사량체(tetramer)는 면역글로불린 중 사슬과 경 사슬이 예를 들어 다이설파이드 결합에 의해 상호 연결되어 형성되며, 중 사슬도 유사하게 연결된다. 중 사슬 불변 영역은 CH1, CH2 및 CH3의 세 가지 도메인을 포함한다. 경 사슬 불변 영역은 하나의 도메인 CL로 구성된다. 중 사슬의 가변 도메인과 경 사슬의 가변 도메인은 항원과 상호작용하는 결합 도메인이다. 항체의 불변 영역은 일반적으로 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 작동체 세포) 및 고전적인 보체계(complement system)의 첫 번째 성분(C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 항체의 결합을 매개한다.

- [0029] 본 명세서에 사용된 항체의 단편("항체 단편", "면역글로불린 단편", "항원-결합 단편" 또는 "항원-결합 폴리펩타이드"로도 지칭될 수 있음)은 표적인 $\gamma \delta T$ 세포 수용체의 델타 가변 1(V δ 1) 사슬에 특이적으로 결합하는 항체의 일부(또는 상기 부분을 포함하는 구조물)를 지칭한다(예를 들어, 하나 이상의 면역글로불린 사슬이 전장이 아니지만 표적에 특이적으로 결합하는 분자). 항체 단편이라는 용어에 포함되는 결합 단편의 예는 다음을 포함한다:
- [0030] (i) Fab 단편 (VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가(monovalent) 단편);
- [0031] (ii) F(ab')₂ 단편 (힌지 영역에서 다이설파이드 다리에 의해 연결된 두 개의 Fab 단편으로 구성된 2가(bivalent) 단편);
- [0032] (iii) Fd 단편 (VH 및 CH1 도메인으로 구성됨);
- [0033] (iv) Fv 단편 (항체의 단일 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 구성됨);
- [0034] (v) 단일 사슬 가변 단편, scFv (재조합 방법을 사용하여 VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 사슬로 만들 수 있게 하는 합성 링커에 의해 연결된 VL 및 VH 도메인으로 구성됨);
- [0035] (vi) VH (VH 도메인으로 구성된 면역글로불린 사슬 가변 도메인);
- [0036] (vii) VL (VL 도메인으로 구성된 면역글로불린 사슬 가변 도메인);
- [0037] (viii) 도메인 항체 (dAb, VH 또는 VL 도메인으로 구성됨);
- [0038] (ix) 미니바디(minibody)(CH3 도메인을 통해 연결된 한 쌍의 scFv 단편으로 구성됨); 및
- [0039] (x) 디아바디(diabody)(작은 펩타이드 링커에 의해 다른 항체로부터의 VL 도메인과 연결된 하나의 항체로부터의 VH 도메인으로 구성되는 scFv 단편의 비공유(noncovalent) 이량체로 구성됨).
- [0040] "인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 상기 인간 항체가 투여된 인간 대상체는 종-간(cross species) 항체 반응(예를 들어, HAMA(human-anti-mouse antibody) 반응으로 지칭되는)을 일으키지 않는다. 상기 인간 항체는 예를 들어 CDRs, 특히 CDR3에, 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기(예를 들어, 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 유발에 의하거나 또는 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나 이 용어가 마우스와 같은 다른 포유동물 종의 생식계열에서 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열에 이식된 항체를 포함하는 것을 의도하는 것은 아니다. 숙주세포에 형질감염된 재조합 발현 벡터를 사용하여 발현된 항체, 재조합체(recombinant)로부터 단리된 항체, 조합 인간 항체 라이브러리, 인간 면역글로불린 유전체에 대해 유전자이식된 동물(예를 들면, 마우스)로부터 단리된 항체 또는 다른 DNA 서열에 대한 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스크라이싱을 포함하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체와 같이, 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 인간 항체 또한 "재조합 인간 항체"로 지칭될 수 있다.
- [0041] 비-인간 면역글로불린 가변 도메인의 프레임워크 영역에서 하나 이상의 아미노산 잔기를 인간 가변 도메인의 상응하는 잔기로 치환하는 것은 "인간화(humanisation)"로 지칭된다. 가변 도메인의 인간화는 인간의 면역원성을 감소시킬 수 있다.
- [0042] "특이성"은 특정 항체 또는 그 단편이 결합할 수 있는 상이한 유형의 항원 또는 항원 결정기의 수를 지칭한다.

항체의 특이성은 특정 항원을 고유한 분자 실체로 인식하고 다른 항원과 구별하는 항체의 능력이다. 항원 또는 에피토프에 "특이적으로 결합하는" 항체는 당업계에서 공지된 용어이다. 분자가 다른 표적보다 특정 표적 항원 또는 에피토프와 더 자주, 더 빠르게, 더 오랫동안 및/또는 더 큰 친화도로 반응하는 경우, 분자는 "특이적 결합"을 나타낸다고 일컫는다. 항체가 다른 기질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로 더 빠르게 및/또는 더 오랫동안 결합하는 경우 항체는 표적 항원 또는 에피토프에 "특이적으로 결합"한다.

[0043] 항원과 항원-결합 폴리펩타이드의 해리에 대한 평형 상수(KD)로 표시되는 "친화도(affinity)"는 항원 결정기와 항체(또는 그 단편) 상의 항원 결합 부위 사이의 결합 강도의 척도이다: KD 값이 작을수록 항원 결정기와 항원 결합 폴리펩타이드 간의 결합력이 강하다. 또는, 친화도는 1/KD인 친화도 상수(KA)로 표현될 수도 있다. 친화도는 관심 대상인 특정 항원에 따라 알려진 방법으로 결정할 수 있다.

[0044] 10^{-6} 보다 작은 모든 KD 값은 결합을 나타내는 것으로 간주한다. 항원 또는 항원 결정기에 대한 항체 또는 이의 단편의 특이적 결합은, 예를 들어 스캐차드(Scatchard) 분석 및/또는 방사선면역분석(RIA), 효소 면역분석(EIA), 샌드위치 경쟁 분석과 같은 경쟁적 결합 분석, 평형 투석, 평형 결합, 겔 여과, ELISA, 표면 플라즈몬 공명 또는 분광법(예를 들면, 형광 분석을 사용하여) 및 당업계에 공지된 다른 변형법을 포함하는 임의의 적합한 공지된 방식으로 결정할 수 있다.

[0045] "결합력"은 항체 또는 이의 단편과 관련 항원 사이의 결합 강도의 척도이다. 결합력은 항원 결정기와 항체 상의 항원 결합 부위 사이의 친화도와 항체에 존재하는 관련 결합 부위의 수 모두와 관련이 있다.

[0046] "인간 조직 Vδ1+ 세포"와 "조혈 및 혈액 Vδ1+ 세포" 및 "중양 침윤 림프구(TIL) Vδ1+ 세포"는 각각 인간 조직 또는 조혈 혈액계 또는 인간 중양에 포함되거나 그로부터 유래된 Vδ1+ 세포로 정의된다. 상기 모든 세포 유형은 (i) 위치 또는 유래된 곳 및 (ii) Vδ1+ TCR의 발현에 의해 식별될 수 있다.

[0047] "조절 항체"는 항체가 결합하는 표적을 발현하는 세포와 접촉하거나 결합 시 측정 가능한 변화를 부여하는 항체로, 세포 주기 및/또는 세포 수, 및/또는 세포 생존율, 및/또는 하나 이상의 세포 표면 마커 및/또는 하나 이상의 분비 분자(예를 들어, 사이토카인, 케모카인, 류코트리엔 등)의 분비 및/또는 기능(예를 들어, 표적 세포 또는 병든 세포에 대한 세포독성)의 측정 가능한 변화를 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0048] 세포 또는 이의 집단을 "조절"하는 방법은 상기 세포 또는 세포들에서 하나 이상의 측정가능한 변화, 또는 이로부터의 분비가 유발되어 하나 이상의 "조절된 세포"가 생성되는 방법을 지칭한다.

[0049] "면역 반응"은 조절 항체의 첨가 시, 면역계의 하나 이상의 세포 또는 하나의 세포 유형 또는 하나의 내분비 경로 또는 하나의 외분비 경로에서 측정 가능한 변화이다(세포 매개 반응, 체액성 반응, 사이토카인 반응, 케모카인 반응을 포함하지만 이에 한정되지 않음).

[0050] "면역 세포"는 면역계의 세포로 정의되며, CD34+ 세포, B-세포, CD45+ (림프구 공통 항원) 세포, 알파-베타 T-세포, 세포독성 T-세포, 헬퍼 T-세포, 형질 세포, 호중구, 단핵구, 대식세포, 적혈구 세포, 혈소판, 수지상 세포, 식세포, 과립구, 선천 림프구 세포, 자연 살해(NK) 세포 및 감마 델타 T-세포를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일반적으로 면역 세포는 면역 세포를 하위 집단으로 분화하기 위해 식별하거나 그룹화 또는 클러스터링하기 위해 조합 세포 표면 분자 분석(예를 들어, 유세포 분석을 통하여)에 의해 분류된다. 이후 추가 분석을 통해 더 세분화할 수 있다. 예를 들어, CD45+ 림프구는 vδ 양성 집단과 vδ 음성 집단으로 더 세분화될 수 있다.

[0051] "모델 시스템"은 항체 또는 이의 단편과 같은 의약품이 어떻게 질병의 징후 또는 증상을 개선하는 의약으로 기능 지에 대한 이해를 돕기 위해 설계된 생물학적 모델 또는 생물학적 재현(representations)이다. 이러한 모델은 일반적으로 시험관내, 체외 및 체내에서 병든 세포, 병들지 않은 세포, 건강한 세포, 작동체 세포 및 조직 등의 사용을 포함하며, 여기서 상기 약제의 성능이 연구되고 비교된다.

[0052] "병든 세포(diseased cells)"는 암과 같은 질병, 바이러스 감염과 같은 감염, 또는 염증성 상태 또는 염증성 질환과 같은 질병의 진행과 관련된 표현형을 나타낸다. 예를 들어, 병든 세포는 종양 세포, 자가면역 조직 세포 또는 바이러스에 감염된 세포일 수 있다. 따라서 상기 병든 세포는 종양성, 또는 바이러스 감염된 또는 염증성으로 정의될 수 있다.

[0053] "건강한 세포"는 병들지 않은 정상 세포를 의미한다. "정상" 또는 "병들지 않은" 세포로도 지칭될 수 있다. 병들지 않은 세포는 암이 아닌, 감염되지 않은 또는 염증성이 아닌 세포를 포함한다. 상기 세포는 약물로 부여된 병든 세포 특이성을 결정하고/하거나 약물의 치료 지수를 더 잘 이해하기 위하여 관련 질병 세포와 함께

종종 사용된다.

- [0054] "병든-세포-특이성"은 작동체 세포 또는 그 집단(예를 들어, Vδ1+ 세포 집단과 같은)이 병들지 않은 세포 또는 건강한 세포에는 해를 끼치지 않으면서 암 세포와 같은 병든 세포를 구별하고 사멸시키는 데 얼마나 효과적인지를 측정하는 것이다. 이 잠재력은 모델 시스템에서 측정될 수 있으며, 병든 세포를 선택적으로 사멸시키거나 용해하는 작동체 세포 또는 작동체 세포 집단의 경향 대 병들지 않은 세포 또는 건강한 세포를 사멸시키거나 용해하는 상기 작동체 세포(들)의 경향을 비교하는 것을 포함할 수 있다. 상기 병든-세포-특이성은 약제의 잠재적인 치료 지수에 대한 정보를 제공할 수 있다.
- [0055] "향상된 병든-세포 특이성"은 예를 들면 Vδ1+ 세포 또는 그의 집단과 같은 작동체 세포의 표현형을 나타내며, 이는 병든 세포를 특이적으로 사멸시키는 능력을 더욱 증가시키도록 조절되었다. 이 향상은 병든-세포 사멸 특이성 또는 선택성에서의 배수-변화 또는 백분율 증가를 포함하는 다양한 방식으로 측정될 수 있다.
- [0056] 적절하게는, 본 발명의 항체 또는 이의 단편(즉, 폴리펩타이드)이 단리된다. "단리된" 폴리펩타이드는 원래의 환경으로부터 제거된 것이다. 용어 "단리된"은 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하기 위하여 사용될 수 있다(예를 들어, Vδ1에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 그의 단편은 Vδ1 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없는 것이다). 용어 "단리된"은 또한 단리된 항체가 약학 조성물의 활성 성분으로 제형화될 때 치료적으로 투여하기에 충분히 순수하거나, 또는 70-80%(w/w) 이상 순수, 더욱 바람직하게는 80-90%(w/w) 이상 순수, 더욱 더 바람직하게는 90-95% 순수; 가장 바람직하게는 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상 순수하거나 또는 100%(w/w) 순수한 제제를 지칭하기 위해 사용될 수 있다.
- [0057] 적절하게는, 본 발명에 사용된 폴리뉴클레오티드는 단리된다. "단리된" 폴리뉴클레오티드는 원래의 환경으로부터 제거된 것이다. 예를 들어, 자연 발생 폴리뉴클레오티드는 자연계에 공존하는 물질의 일부 또는 전체로부터 분리되는 경우 단리된다. 예를 들어 폴리뉴클레오티드가 자연 환경의 일부가 아닌 벡터에 클로닝되거나 cDNA 내에 포함되는 경우 폴리뉴클레오티드는 단리된 것으로 간주된다.
- [0058] 항체 또는 이의 단편은 천연 발생 대립유전자 변이체 뿐만 아니라 돌연변이체 또는 임의의 다른 비-자연으로 발생하는 변이체 역시 포함하는 "기능적 활성 변이체"일 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 대립유전자 변이체는 본질적으로 폴리펩타이드의 생물학적 기능을 변경하지 않는 하나 이상의 아미노산이 치환, 결실 또는 부가된 것을 특징으로 하는 (폴리)펩타이드의 대체 형태이다. 예를 들어, CDRs를 함유하는 프레임워크가 변형될 때, CDRs 자체가 변형될 때, 상기 CDRs가 대체 프레임워크에 이식될 때, 또는 N- 또는 C-말단 연장부가 포함될 때, 상기 기능적 활성 변이체는 여전히 기능할 수 있으며 이에 한정되지 않는다. 추가로, 결합 도메인을 함유하는 CDR은 다른 항체와 공유되는 것과 같은 상이한 파트너 사슬과 쌍을 이룰 수 있다. 소위 '공통' 경 사슬 또는 '공통' 중 사슬과 공유 시, 상기 결합 도메인은 여전히 기능할 수 있다. 추가로, 상기 결합 도메인은 다량체화될 때 기능할 수 있다. 추가로, '항체 또는 이의 단편'은 또한 VH 또는 VL 또는 불변 도메인이 다른 기준 서열(예를 들어, IMGT.org에 나열됨) 쪽으로 혹은 다른 쪽으로 변형되어 여전히 기능하는 기능적 변이체를 포함할 수 있다.
- [0059] 두 개의 밀접하게 관련된 폴리펩타이드 서열을 비교하기 위해, 제1 폴리펩타이드 서열과 제2 폴리펩타이드 서열 사이의 "% 상동성"은 폴리펩타이드 서열에 대한 표준 설정(BLASTP)으로 NCBI BLAST v2.0을 사용하여 계산될 수 있다. 두 개의 밀접하게 관련된 폴리뉴클레오티드 서열을 비교하기 위해, 제1 폴리뉴클레오티드 서열과 제2 폴리뉴클레오티드 서열 사이의 "% 상동성"은 뉴클레오티드 서열에 대한 표준 설정(BLASTN)으로 NCBI BLAST v2.0을 사용하여 계산될 수 있다.
- [0060] 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 전체 길이에 걸쳐 다른 폴리펩타이드 또는 폴리뉴클레오티드 서열과 100% 상동성을 갖는 경우 같거나 "동일하다"고 한다. 서열의 잔기는 왼쪽에서 오른쪽으로, 즉 폴리펩타이드에 대해서는 N-말단에서 C-말단으로, 폴리뉴클레오티드에 대해서는 5'에서 3' 말단으로 번호가 매겨진다.
- [0061] 서열 간의 "차이"는 제1 서열과 비교하여 제2 서열의 위치에서 단일 아미노산 잔기의 삽입, 결실 또는 치환을 지칭한다. 두 폴리펩타이드 서열은 하나, 둘 또는 그 이상의 아미노산 차이를 포함할 수 있다. 제1 서열과 동일(100% 상동성)하지 않은 제2 서열의 삽입, 결실 또는 치환은 % 상동성을 감소시킨다. 예를 들어, 동일한 서열이 9개의 아미노산 잔기 길이인 경우, 제2 서열에서 하나의 치환은 88.9%의 상동성을 초래한다. 제1 및 제2 폴리펩타이드 서열이 9개의 아미노산 잔기 길이이고 6개의 동일한 잔기를 공유한다면, 제1 및 제2 폴리펩타이드 서열은 66% 초과 상동성을 갖는다(제1 및 제2 폴리펩타이드 서열은 66.7% 상동성을 갖는다).
- [0062] 또는, 제1, 기준 폴리펩타이드 서열을 제2, 비교 폴리펩타이드 서열과 비교하기 위하여, 제2 서열을 생성하기

위해 제1 서열에 이루어진 부가, 치환 및/또는 결실의 수를 확인할 수 있다. "부가"는 하나의 아미노산 잔기를 (제1 폴리펩타이드의 양쪽 말단에 추가하는 것을 포함하여) 제1 폴리펩타이드의 서열에 추가하는 것이다. "치환"은 제1 폴리펩타이드의 서열에서 하나의 아미노산 잔기를 다른 하나의 아미노산 잔기로 대체하는 것이다. 상기 치환은 보존적이거나 비-보존적일 수 있다. "결실"은 제1 폴리펩타이드의 서열에서 하나의 아미노산 잔기를 (제1 폴리펩타이드의 양쪽 말단에서 제거하는 것을 포함하여) 제거하는 것이다.

[0063] "보존적" 아미노산 치환은 아미노산 잔기가 화학 구조가 유사한 다른 아미노산 잔기로 대체되어, 폴리펩타이드의 기능, 활성 또는 다른 생물학적 특성에 거의 영향을 미치지 않을 것으로 예상되는 아미노산 치환이다. 이러한 보존적 치환은 적절하게는 하기 그룹 내의 하나의 아미노산이 동일한 그룹 내의 다른 아미노산 잔기로 치환되는 치환이다:

그룹	아미노산 잔기
비극성 지방족	글리신(Glycine)
	알라닌(Alanine)
	발린(Valine)
	메티오닌(Methionine)
	류신(Leucine)
	이소류신(Isoleucine)
방향족	페닐알라닌(Phenylalanine)
	티로신(Tyrosine)
	트립토판(Tryptophan)
극성 비전하	세린(Serine)
	트레오닌(Threonine)
	시스테인(Cysteine)
	프롤린(Proline)
	아스파라긴(Asparagine)
	글루타민(Glutamine)
음전하	Aspartate(아스파르트산염)
	Glutamate(글루타민산염)
양전하	Lysine(라이신)
	Arginine(아르기닌)
	Histidine(히스티딘)

[0064]

[0065] 적절하게는, 소수성 아미노산 잔기는 비극성 아미노산이다. 더욱 적절하게는, 소수성 아미노산 잔기는 V, I, L, M, F, W 또는 C로부터 선택된다.

[0066] 본 명세서에 사용된 바와 같이, 폴리펩타이드 서열의 넘버링 및 CDRs 및 FRs의 정의는 Kabat 시스템에 따라 정의된 바와 같다(Kabat et al., 1991, 그 전문이 본 명세서에 참고로 포함됨). 제1 및 제2 폴리펩타이드 서열 사이의 "상응하는" 아미노산 잔기는 Kabat 시스템에 따라 제2 서열의 아미노산 잔기와 동일한 위치를 공유하는 제1 서열의 아미노산 잔기이고, 제2 서열에서의 아미노산 잔기는 제1 서열과 동일성이 다를 수 있다. 적절하게는 Kabat 정의에 따라 프레임워크와 CDRs가 동일한 길이라면, 상응하는 잔기는 동일한 숫자(및 문자)를 공유한다. 배열은 수동으로 또는 예를 들어 표준 설정을 사용하는 NCBI BLAST v2.0(BLASTP 또는 BLASTN)과 같은 서열 배열에 대해 알려진 컴퓨터 알고리즘을 사용하여 수행될 수 있다.

[0067] 본 명세서에서 "에피토프"라 함은 항체 또는 이의 단편에 의해 특이적으로 결합되는 표적의 부분을 지칭한다. 에피토프는 또한 "항원 결정기"로도 지칭될 수 있다. 두 항체 모두가 동일하거나 입체적으로 중첩되는 에피토프를 인식한다면 항체는 다른 항체와 "본질적으로 동일한 에피토프"에 결합한다. 두 항체가 동일하거나 중복되는 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하기 위해 일반적으로 사용되는 방법은 경쟁 분석이며, 이는 표지된 항원이나 표지된 항체 중 하나를 사용하여 다양한 형태(예를 들어, 방사성 또는 효소 표지를 사용하는 웰 플레이트

또는 항원 발현 세포에 대한 유세포 분석)으로 구성될 수 있다.

- [0068] 단백질 표적에서 발견되는 에피토프는 "선형 에피토프" 또는 "입체 에피토프"로 정의될 수 있습니다. 선형 에피토프는 단백질 항원에서 연속적인 아미노산 서열에 의해 형성된다. 입체 에피토프는 단백질 서열에서는 불연속적이지만 단백질이 3차원 구조로 접힐 때 서로 접하는 아미노산으로 형성된다.
- [0069] 본 명세서에서 사용되는 용어 "벡터"는 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하고자 하는 것이다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드"로, 이는 추가적인 DNA 세그먼트가 연결(ligate)될 수 있는 원형의 이중가닥 DNA 루프를 지칭한다. 다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터이며, 그 안에서 추가의 DNA 세그먼트가 바이러스 게놈에 연결될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입된 숙주 세포에서 자발적으로 복제할 수 있다(예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜 포유동물 및 효모 벡터). 다른 벡터(예를 들어, 비-에피솜 포유동물 벡터)는 숙주 세포 내로 도입 시 숙주 세포의 게놈 내로 통합될 수 있으며, 이에 의해 숙주의 게놈과 함께 복제된다. 더 나아가 특정 벡터는 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 본 명세서에서 상기 벡터는 "재조합 발현 벡터"(또는 간단히 "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로 재조합 DNA 기술에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다. 플라스미드는 가장 일반적으로 사용되는 벡터의 형태이므로, 본 명세서에서 "플라스미드"와 "벡터"는 혼용될 수 있다. 그러나, 본 발명은 동등한 기능을 제공하는 바이러스 벡터(예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스)와 박테리오파지 및 파지미드 시스템과 같은 다른 형태의 발현 벡터를 포함하고자 한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "재조합 숙주 세포"(또는 간단히 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포를 지칭하고자 하는 것이다. 상기 용어는 특정 대상 세포뿐만 아니라 상기 세포의 자손(progeny)도 지칭하려는 것으로, 예를 들어, 상기 자손이 세포주 또는 세포 은행을 만드는 데 사용되면, 이후 선택적으로 저장, 제공, 판매, 이전 또는 사용되어 본 명세서에 기재된 바와 같이 항체 또는 이의 단편을 제조한다.
- [0070] "대상", "환자" 또는 "개인"이라 함은 치료될 대상, 특히 포유동물 대상을 지칭한다. 포유류 대상은 인간, 비-인간 영장류, 농장 동물(소와 같은), 스포츠 동물, 또는 개, 고양이, 기니피그, 토끼, 쥐 또는 생쥐와 같은 애완동물을 포함합니다. 일부 실시예에서, 대상은 인간이다. 다른 실시예에서, 대상은 마우스와 같은 비-인간 포유동물이다.
- [0071] 용어 "충분한 양"은 원하는 효과를 나타내기 위해 충분한 양을 의미한다. 용어 "치료적 유효량"은 질병 또는 장애의 증상을 개선하는데 효과적인 양이다. 예방은 치료로 간주될 수 있기 때문에 치료적 유효량은 "예방적 유효량"일 수 있다.
- [0072] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약"은 특정된 값보다 최대 10% 이상 및 최대 10% 이하를 포함하며, 적절하게는 특정된 값보다 최대 5% 이상 및 최대 5% 이하를 포함하고, 특히 특정된 값을 포함한다. 용어 "내지"는 특정된 경계 값을 포함한다.
- [0073] 질병 또는 장애의 징후 또는 증상의 중증도, 대상이 경험하는 상기 징후 또는 증상의 빈도, 또는 둘 모두가 감소되면 질병 또는 장애는 "개선"된 것이다.
- [0074] 본 명세서에서 사용되는 "질병 또는 장애의 치료"는 대상이 경험하는 질병 또는 장애의 적어도 하나의 징후 또는 증상의 빈도 및/또는 중증도를 감소시키는 것을 의미한다.
- [0075] 본 명세서에 사용되는 "암"은 세포의 비정상적인 성장 또는 분열을 의미한다. 일반적으로 암세포의 성장 및/또는 수명은 정상 세포 및 주변 조직의 성장 및/또는 수명을 초과하며 이와 조화를 이루지 않는다. 암은 양성, 전암성 또는 악성일 수 있다. 암은 다양한 세포 및 조직에서 발생하며, 구강(예를 들어, 입, 혀, 인두 등), 소화기계(예를 들어, 식도, 위, 소장, 결장, 직장, 간, 담관, 담낭, 췌장 등), 호흡기계(예를 들어, 후두, 폐, 기관지 등), 뼈, 관절, 피부(예를 들어, 기저 세포, 편평 세포, 수막종 등), 유방, 생식기 계통(예를 들어, 자궁, 난소, 전립선, 고환 등), 비뇨기계(예를 들어, 방광, 신장, 요관 등), 눈, 신경계(예를 들어, 뇌 등), 내분비계(예를 들어, 갑상선 등) 및 조혈계(예를 들어, 림프종, 골수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병 등)을 포함한다.
- [0076] **γ δ T 세포를 조절하는 방법**
- [0077] 본 발명의 첫 번째 양태에 따르면, Vδ1 T 세포를 포함하는 세포 집단에 본 명세서에 정의된 항-Vδ1 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는, 델타 가변 1 사슬(Vδ1) T 세포를 조절하는 체외 방법이 제공된다. 항체 또는 이의 단편을 "투여"하는 것은 Vδ1 T 세포를 "접촉시키는" 것을 포함하는 것으로 이해될 것이다.

- [0078] V δ 1 T 세포의 조절은 다음을 포함할 수 있다:
- [0079] - 예를 들어, V δ 1 T 세포의 수를 선택적으로 증가시키거나 V δ 1 T 세포의 생존을 증진시키는 것에 의한, V δ 1 T 세포의 증식;
- [0080] - 예를 들어, V δ 1 T 세포 효능을 증가시키는, 즉 표적 세포의 사멸을 증가시키는 것에 의한, V δ 1 T 세포의 자극;
- [0081] - 예를 들어, V δ 1 T 세포의 지속성 증가시키는 것에 의한, V δ 1 T 세포 고갈 방지;
- [0082] - V δ 1 T 세포의 탈과립화;
- [0083] - 예를 들어, V δ 1 TCR 세포 표면의 발현을 하향조절, 즉 V δ 1 TCR 내재화 또는 V δ 1 TCR 단백질 발현 감소 또는 V δ 1 TCR의 결합 차단을 야기하는 것에 의한, V δ 1 T 세포의 면역억제;
- [0084] - 예를 들어, V δ 1 T 세포 증식을 억제하거나 또는 V δ 1 T 세포 사멸을 유도(즉, V δ 1 T 세포를 사멸시킴)하는 것에 의한, V δ 1 T 세포 수 감소.
- [0085] 상기 V δ 1 T 세포의 조절은, 예를 들어 V δ 1 T 세포 활성화 또는 V δ 1 T 세포 억제를 포함할 수 있다. 일 실시예에서, V δ 1 T 세포는 본 명세서에 정의된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여함으로써 활성화된다. 다른 실시예에서, V δ 1 T 세포는 본 명세서에 정의된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여함으로써 억제된다. 다른 실시예에서, V δ 1 T 세포는 본 명세서에 정의된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 환자에게 투여할 때 억제되지 않는다.
- [0086] 일 실시예에서, V δ 1 T 세포의 조절은 배양물(즉, 시험관내 또는 체외)에서 항-TCR 델타 1 가변 항체 또는 이의 단편을 V δ 1 T 세포에 투여하는 것을 포함한다. V δ 1 T 세포는, 예를 들어, 다른 림프구 세포 유형(예를 들어, $\alpha\beta$ T 세포 또는 NK 세포)을 포함하는 세포 집단과 같은, 혼합 세포 집단에 존재할 수 있다.
- [0087] 일 실시예에서, V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 (즉, 본 명세서에 기재된 바와 같이 시료로부터) 분리된다. 추가의 실시예에서, 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 T 세포에 대해 농축된다. 또 다른 실시예에서, 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 $\gamma\delta$ T 세포에 대해 농축된다.
- [0088] 방법은 또한 $\gamma\delta$ T 세포의 정제된 분획을 포함하는 세포 집단에 대해 수행될 수 있다. 상기 실시예에서, 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 시료에 존재하는 $\alpha\beta$ T 세포 및/또는 NK 세포와 같은 $\gamma\delta$ T 세포 이외의 세포 유형이 격감된다. 세포 집단은 부가적으로 또는 대안적으로 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 투여 전에 T 세포 및/또는 $\gamma\delta$ 세포와 같은 V δ 1을 함유할 수 있는 세포 유형이 농축될 수 있다. 예를 들어, 시료를 배양하기 전에, 시료는 T 세포가 농축되거나 $\gamma\delta$ T 세포가 농축되거나 $\alpha\beta$ T 세포가 격감되거나 비- $\gamma\delta$ T 세포가 격감될 수 있다. 일 실시예에서, 시료는 먼저 $\alpha\beta$ T 세포가 격감된 뒤 CD3+ 세포가 농축된다. 농축 또는 고갈은 농축/고갈될 표현형과 관련된 세포 표면 상의 분자에 결합하는 항체로 코팅된 자기 비드를 사용하는 것과 같은 당업계에서 공지된 기술을 사용하여 수행될 수 있다.
- [0089] 세포 배양물에서 림프구 이외의 세포 유형의 존재는 V δ 1 세포 증식을 억제할 수 있다. 예를 들어 기질, 상피, 종양 및/또는 영양 세포와 같은 상기 세포는 배양 전에 제거될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 세포 집단은 배양 동안 기질 세포와 직접 접촉하지 않는다. 기질 세포의 예로는 섬유아세포, 혈관주위세포, 중간엽 세포, 각질세포, 내피 세포 및 비-혈액학적 종양 세포를 포함한다. 바람직하게는, 림프구는 배양 동안 섬유아세포와 직접 접촉하지 않는다. 일 실시예에서, 세포 집단은 배양 동안 상피 세포와 직접 접촉하지 않는다. 일 실시예에서, 세포 집단은 배양 동안 종양 세포 및/또는 영양 세포와 직접 접촉하지 않는다.
- [0090] 일 실시예에서, 방법은 실질적으로 기질 세포와의 접촉이 없는 상태에서 V δ 1 T 세포를 배양하는 것을 포함한다. 추가 실시예에서, 방법은 실질적으로 섬유아세포와의 접촉이 없는 상태에서 V δ 1 T 세포를 배양하는 것을 포함한다.
- [0091] 일 실시예에서, 상기 방법은 실질적으로 혈청이 없는 배지(예를 들어, 무혈청(serum-free) 배지 또는 혈청 대체제(SR, serum-replacement)를 함유하는 배지)에서 V δ 1 T 세포를 배양하는 것을 포함한다. 따라서, 일 실시예에서, 방법은 무혈청 배지에서 배양하는 것을 포함한다. 상기 무혈청 배지는 또한 혈청 대체제 배지를 포함할 수 있으며, 혈청 대체제는 인간 또는 동물 유래 혈청의 사용을 피하기 위하여 화학적으로 정의된 성분으로 한다. 다른 실시예에서, 상기 방법은 혈청(예를 들어, 인간 AB 혈청 또는 소태아혈청(FBS))을 함유하는 배

지에서 배양하는 것을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 배지는 혈청 대체제를 함유한다. 일 실시예에서, 상기 배지는 동물 유래의 제품을 함유하지 않는다.

[0092] 무혈청 배지에서 배양된 시료는 혈청의 여과, 침전, 오염 및 공급과 관련된 문제를 피할 수 있다는 이점이 있음은 당연하다. 또한, 동물 유래 제품은 인간 치료제의 임상 등급으로 제조하는데 사용하기에는 적당하지 않다. 세포, 특히 V δ 1 T 세포에 대해 무혈청 배지를 사용하면 AB 혈청을 함유하는 배지를 사용하는 것에 비해 시료로부터 수득된 세포의 수가 실질적으로 증가된다.

[0093] 일 실시예에서, 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편은 가용성 또는 고정화된 형태이다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편은 가용성 형태로 V δ 1 T 세포에 투여될 수 있다. 또는, 항체 또는 이의 단편은 항체 또는 이의 단편이 비드 또는 플레이트와 같은 표면에 부착되거나 공유 결합된 후 (즉, 고정화된 형태로) V δ 1 T 세포에 투여될 수 있다. 일 실시예에서, 항체는 Fc-코팅된 웰과 같은 표면 상에 고정화된다. 또는 항체 또는 이의 단편은 세포의 표면에 부착된다(예를 들어, 항원제시세포(APC, antigen presenting cell)의 표면에 고정된다). 또 다른 실시예에서, 항체는 세포 집단이 항체와 접촉될 때 표면에 고정되지 않는다.

[0094] 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편에 의해 접촉된 세포 집단은 다양한 시료 유형으로부터 수득될 수 있다(단리 방법은 하기에 추가로 기재됨). 일 실시예에서, 시료는 비-조혈조직 시료이다. 본 명세서에서 "비-조혈조직" 또는 "비-조혈조직 시료"라 함은 피부(예를 들어, 인간 피부) 및 장(예를 들어, 인간 장)을 포함한다. 비-조혈조직은 혈액, 골수, 림프 조직, 림프절 조직 또는 흉선 조직 이외의 조직이다. 일 실시예에서, 비-조혈조직 시료는 피부(예를 들어, 인간 피부)이다. 일부 실시예에서, 세포 집단(예를 들어, γ δ T 세포)는 혈액 또는 활액(synovial fluid)과 같은 특정 유형의 생물학적 유체 시료로부터는 수득되지 않는다. 일부 실시예에서, 세포 집단(예를 들어, γ δ T 세포)은 피부(예를 들어, 인간 피부)로부터 수득되며, 이는 당업계에 공지된 방법에 의해 수득될 수 있다. 예를 들어, 비-조혈조직 시료로부터의 세포 배출을 촉진하도록 구성된 합성 스캐폴드 상에서 비-조혈조직 시료를 배양하는 것에 의해, 세포 집단은 비-조혈조직 시료로부터 수득될 수 있다. 또는 상기 방법은 위장관(예를 들어, 결장 또는 장), 유선, 폐, 전립선, 간, 비장, 췌장, 자궁, 질 및 기타 피부, 점막 또는 장액막에서 얻은 세포 집단(예를 들어, γ δ T 세포)에 적용될 수 있다.

[0095] 다른 실시예에서, 시료는 조혈 시료 또는 그의 분획이다(즉, 세포 집단은 조혈 시료 또는 그의 분획으로부터 수득된다). 본 명세서에서 "조혈 시료" 또는 "조혈조직 시료"라 함은 혈액(예를 들어, 말초혈 또는 제대혈), 골수, 림프 조직, 림프절 조직, 흉선 조직, 및 이들의 분획 또는 농축 부분을 포함한다. 시료는 바람직하게는 버피 코트(buffy coat) 세포, 백혈구채집(leukapheresis) 생성물, 말초혈액 단핵세포(PBMC) 및 저밀도 단핵세포(LDMC)를 포함하는, 말초혈 또는 제대혈 또는 이의 분획을 포함하는 혈액이다. 일부 실시예에서 시료는 인간 혈액 또는 이의 분획이다. 세포는 밀도구배 원심분리와 같은 당업계에 공지된 기술을 사용하여 혈액 시료로부터 수득될 수 있다. 예를 들어, 동일 부피의 FICOLL-HYPaque 상에 전혈 층을 이루고, 상온에서 15-30분 동안 400xg에서 원심분리할 수 있다. 계면 물질은 배양 배지에서 수집 및 세척할 수 있는 저밀도 단핵세포를 포함하고, 상온에서 10분 동안 200xg에서 원심분리할 수 있다.

[0096] 세포 집단은 예를 들어, 유방 또는 전립선 종양같은 암 조직 시료로부터 수득될 수 있다(즉, γ δ T 세포는 암 조직 시료에도 상재할 수 있다). 일부 실시예에서, 세포 집단은 인간 암 조직 시료(예를 들어, 고형 종양 조직)로부터 유래할 수 있다. 다른 실시예에서, 세포 집단은 인간 암 조직 이외의 시료(예를 들어, 상당한 수의 종양 세포가 없는 조직)로부터 유래할 수 있다. 예를 들어, 세포 집단은 주변 또는 인접한 암 조직과 분리된 피부 영역(예를 들면, 건강한 피부)에서 유래할 수 있다. 따라서, 일부 실시예에서, 세포 집단은 인간 암 조직(예를 들어, 인간 암 조직)으로부터 수득되지 않는다.

[0097] 세포 집단은 인간 또는 비-인간 동물 조직으로부터 수득될 수 있다. 따라서, 상기 방법은 인간 또는 비-인간 동물 조직으로부터 세포 집단을 수득하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 일 실시예에서 시료는 인간으로부터 수득되었다. 다른 실시예에서, 시료는 인간이 아닌 동물 대상으로부터 수득되었다.

[0098] γ δ T 세포의 증식

[0099] 일 실시예에서, 조절은 V δ 1 T 세포의 활성화, 특히 V δ 1 T 세포의 증식을 포함한다. 따라서, 본 발명의 일 양태에 따르면, V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단에 본 명세서에 정의된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는, V δ 1 T 세포를 증식하는 체외 방법이 제공된다. V δ 1 T 세포의 상기 증식은 V δ 1 T 세포의 수의 선택적으로 증가시키는 것 및/또는 V δ 1 T 세포의 생존 증진시키는 것을 통해 달성될 수 있다. 일 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식은 배양물(즉, 시험관내 또는 체외)에서 항-TCR 델타 1 가변 항체 또는 이의 단편을 V

$\delta 1$ T 세포에 투여하는 것을 포함한다. $V\delta 1$ T 세포는, 예를 들어, 다른 림프구 세포 유형(예를 들어, $\alpha\beta$ T 세포 또는 NK 세포)을 포함하는 세포 집단과 같은, 혼합 세포 집단에 존재할 수 있다.

[0100] 따라서, 본 발명은 농축된 $\gamma\delta$ T 세포(예를 들어, $V\delta 1$ T 세포) 집단을 생성하기 위한 체외 방법을 제공한다. 농축된 집단은 혼합된 세포 집단 또는 이의 정제된 분획을 항체 또는 이의 단편과 접촉시키는 것을 포함하는 방법에 의해 혼합된 세포 집단(예를 들어, 환자/공여자로부터 채취한 시료에서 수득됨)으로부터 생성될 수 있다. 상기 항체(또는 이의 단편)는 $\gamma\delta$ TCR의 $V\delta 1$ 사슬에 특이적인 에피토프에 결합함으로써 $V\delta 1$ T 세포를 선택적으로 증식시킨다.

[0101] 또한, 본 명세서에 정의된 방법에 따라 수득된 증식된 $V\delta 1$ T 세포 집단이 제공된다. 본 발명의 이러한 양태에 따르면, 상기 증식된 $V\delta 1$ T 세포 집단은 시험관내 또는 체외에서 수득 및/또는 증식될 수 있음은 당연할 것이다. 일 양태에서, 본 명세서에 정의된 방법에 따라 수득된 증식된 $V\delta 1$ 집단이 제공되며, 여기서 $V\delta 1$ 집단은 시험관내 또는 체외에서 분리되고 증식된다.

[0102] 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체 또는 이의 단편은 $\gamma\delta$ T 세포(예를 들어, $V\delta 1$ T 세포)를 증식하는 방법에 사용될 수 있다. 상기 방법은 시험관내에서 수행될 수 있다. 증식 방법이 시험관내에서 수행되는 경우, 항체(또는 이의 단편)는 전술한 바와 같이 수득된 분리된 $\gamma\delta$ T 세포(예를 들어, $V\delta 1$ T 세포)에 적용될 수 있다. 일부 실시예에서, $\gamma\delta$ T 세포는 비-조혈조직 시료로부터 분리된 세포 집단으로부터 증식된다. 다른 실시예에서, $\gamma\delta$ T 세포는 혈액 시료와 같은 조혈조직 시료로부터 분리된 세포 집단으로부터 증식된다.

[0103] $\gamma\delta$ T 세포(예를 들어, $V\delta 1$ T 세포)의 증식은 본 명세서에 기재된 바와 같이 항체 또는 이의 단편, 및 사이토카인의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 사이토카인에는 인터루킨, 림포카인, 인터페론, 집락 자극 인자 및 케모카인이 포함될 수 있다. 일 실시예에서, 사이토카인은 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-4(IL-4), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-7(IL-7), 인터루킨-8(IL-8), 인터루킨-9(IL-9), 인터루킨-12(IL-12), 인터루킨-18(IL-18), 인터루킨-21(IL-21), 인터루킨-33(IL-33), 인슐린 유사 성장 인자 1(IGF-1), 인터루킨-1 β (IL-1 β), 인터페론- γ (IFN- γ) 및 기질 세포-유래 인자-1(SDF-1)으로부터 선택된다. 본 명세서에 기재된 사이토카인에 대한 언급은 배양물에서 $V\delta 1$ T 세포에 대한 유사한 생리학적 효과를 촉진하는 능력과 관련하여 상기 사이토카인과 동일한 활성을 갖는 모든 화합물을 포함할 수 있음은 당연하며, 모사체 또는 이의 기능적 등가물을 포함하지만 이에 한정되지 않는다.

[0104] 일 실시예에서, 상기 사이토카인은 사이토카인의 공통 사이토카인 수용체 감마-사슬(γc) 패밀리아. 추가 실시예에서, γc -사이토카인은 IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-12, IL-15, IL-21 또는 이들의 혼합물로부터 선택된다.

[0105] 사용된 사이토카인(예를 들면, 인터루킨)은 인간 또는 동물 기원일 수 있으며, 바람직하게는 인간 기원이다. 이는 야생형 단백질 또는 그의 수용체에 결합할 수 있는 생물학적 활성 단편 또는 변이체일 수 있다. 상기 결합은 본 발명에 따른 방법의 조건에서 $\gamma\delta$ T 세포의 활성화를 유도할 수 있다. 더욱 바람직하게는, 사이토카인은 예를 들어 펩타이드, 폴리펩타이드 또는 생물학적 활성 단백질과 같은 다른 분자와 융합되거나 복합된 가용성 형태일 수 있다. 바람직하게는, 인간 재조합 사이토카인이 사용된다. 보다 바람직하게는, 인터루킨 농도의 범위는 1-10000 U/ml, 훨씬 더 바람직하게는 100-1000 U/ml 사이에서 변할 수 있다.

[0106] 추가 실시예에서, 사이토카인은 케모카인이다. 케모카인은 $\gamma\delta$ T 세포를 수득하기 위해 사용되는 시료에 따라 달라지며, 선택될 것이라는 것은 당연하다.

[0107] 한 실시예에서, 상기 방법은 IL-2, IL-9 및/또는 IL-15의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 방법은 IL-2 및/또는 IL-15(즉, IL-2, IL-15 또는 이들의 조합)의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 방법은 IL-9 및/또는 IL-15(즉, IL-9, IL-15 또는 이들의 조합)의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 방법은 IL-2, IL-9 및/또는 IL-15, 및 추가의 성장 인자(예를 들어, IL-21)의 존재 하의 세포 집단을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 방법은 IL-2 및/또는 IL-15 이외의 성장 인자가 없는 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 방법은 IL-9 및/또는 IL-15 이외의 성장 인자가 없는 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 방법은 IL-2, IL-9 및/또는 IL-15가 보충된 기본 배지로 구성된 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 방법은 IL-2 및/또는 IL-15가 보충된 기본 배지로 구성된 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.

- [0108] 일 실시예에서, 상기 방법은 IL 21의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.
- [0109] 일 실시예에서, 상기 방법은 IL 4의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. V δ 1 T 세포에 대한 IL-4에 의해 촉진되는 생리학적 효과(WO2016/198480에 기재된 바와 같은)는 NKG2D 및 NCR 발현 수준의 감소와 세포 독성 기능의 억제 및 향상된 선택적 생존을 포함한다. 또한 배양 후기 동안 IL-4가 없으면 항종양 또는 항바이러스 치료제로 사용하기에 보다 적절한 표현형으로 세포의 생리학적 특성을 변화시킬 수 있다는 것은 공지되어 있다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 증식 방법은 IL-4와 같은 IL-4-유사 활성을 갖는 성장 인자의 부재 하에 시료를 추가로 배양하는 것을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 증식 방법은 IL-4의 부재 하에 시료를 배양하는 것을 포함한다.
- [0110] 일 실시예에서, 사이토카인은 인터루킨-15-유사 활성을 갖는 성장 인자, 즉 배양물에서 V δ 1 T 세포에 대해 유사한 생리학적 효과를 촉진하는 능력과 관련하여 IL-15와 동일한 활성을 갖는 화합물이지만, IL-15 및 IL-15 모사체 또는 IL-2 및 IL-7을 포함한 IL-15의 기능적 등가물에 한정되는 것은 아니다. 배양된 V δ 1 T 세포에 대한 IL-15, IL-2 및 IL-7에 의해 촉진되는 생리학적 효과(WO2016/198480에 기재된 바와 같은)는 본질적으로 동등하며, 즉, 세포독성이 큰 표현형으로 세포 분화를 유도한다. 또한, 배양 초기 기간 동안 IL-2, IL-7 및 IL-15가 없으면, 생존이 상기 사이토카인에 결정적으로 의존되는 (TCR α β + T 및 V δ 2+ T 세포를 포함한) 오염 세포의 기아(starvation) 및 아포토시스(apoptosis)에 기여한다는 것이 공지되어 있다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 증식 방법은 IL-15-유사 활성을 갖는 성장 인자의 부재 하에 시료를 먼저 배양하는 것을 포함한다.
- [0111] 따라서, 일 실시예에서, 상기 방법은 세포 집단을 IL-4를 포함하는 제1 배양 배지에서 배양한 후, IL-15를 포함하는 제2 배양 배지에서 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.
- [0112] 일 실시예에서, 제1 배양 배지에는 IL-15, IL-2 및/또는 IL-7가 없다. 일 실시예에서, 제2 배양 배지에는 IL-4가 없다.
- [0113] 따라서, 일 실시예에서, 상기 증식 방법은 다음을 포함한다:
- [0114] (1) 시료에서 세포를, 본 명세서에 기술된 항체 또는 이의 단편 및 IL-4를 포함하는 제1 배양 배지에서, IL-15, IL-2 및 IL-7의 부재 하에, 배양하는 단계; 및
- [0115] (2) 단계 (1)에서 얻은 세포를, 본 명세서에 기술된 항체 또는 이의 단편 및 IL-15를 포함하는 제2 배양 배지에서, IL-4의 부재 하에, 배양하는 단계.
- [0116] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 배양 배지는 또한 V δ 1 T 세포의 증식을 추가로 향상시킬 수 있는 사이토카인을 비롯한 다른 성장 인자를 함유할 수 있다. 상기 사이토카인의 예로는 (i) IFN- γ 및 IFN- γ -유사 활성을 갖는 임의의 성장 인자, (ii) IL-21 및 IL-21-유사 활성을 갖는 임의의 성장 인자 및 (iii) IL-1 β 및 IL-1 β 유사 활성을 갖는 임의의 성장 인자를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 추가될 수 있는 다른 성장 인자의 예로는 인간 항-SLAM 항체, CD27의 임의의 가용성 리간드 또는 CD7의 임의의 가용성 리간드와 같은 공동자극분자(co-stimulatory molecules)를 포함한다. 상기 성장인자의 임의의 조합물은 배지에 포함될 수 있다.
- [0117] 일 실시예에서, 제1 또는 제2 배양 배지, 또는 두 배양 배지 모두는 하나 이상의 추가 사이토카인을 포함한다. 제1 및/또는 제2 배양 배지는 제2, 제3 및/또는 제4 사이토카인을 포함할 수 있다. 추가 실시예에서, 추가 사이토카인은 IL-21, IFN- γ 및 IL-1 β 로부터 선택된다.
- [0118] 일 실시예에서, 상기 방법은 IL-2, IL-4, IL-21, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-18, IL-33, IGF-1, IL-1 β , IFN- γ , 인간 혈소판 용해물(HPL, human platelet lysate) 및 기질세포-유래인자-1(SDF-1)로 이루어진 군으로부터 선택된 인자와 IL-15의 존재 하에 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다. .
- [0119] γ δ T 세포의 증식은 하나 이상의 추가 T 세포 미토젠(mitogen)의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 용어 "T 세포 미토젠"(" γ δ TCR 작용제"로도 지칭될 수 있음)은 TCR 신호전달을 통하여 T 세포를 자극할 수 있는 임의의 제제를 의미하며, 파이토헤마글루티닌(PHA) 및 콘카나발린 A(ConA)과 같은 식물 력틴 및 비식물 기원의 력틴을 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 일 실시예에서, T 세포 미토젠은 항-CD3 단일클론 항체(mAb)이다. 다른 미토젠으로는 포르볼 12-미리스테이트-13-아세테이트(TPA, phorbol 12-myristate-13-acetate) 및 메제레인(mezerein) 같은 관련 화합물 또는 박테리아 화합물(예를 들어, 포도상구균 장독소 A(SEA, Staphylococcal enterotoxin A) 및 포도상구균 단백질 A)이 있다. T 세포 미토젠은 가용성이거나 고정화될 수 있고, 하나 이상의 T 세포 미토젠이 증식 방법에 사용될 수 있다.
- [0120] 본 명세서에 사용된 "증식된" 또는 " γ δ T 세포의 증식된 집단"이라 함은 비-증식된 집단보다 더 크거나 더 많

은 수의 세포를 함유하는 세포 집단을 포함한다. 상기 집단은 수가 많거나, 수가 적거나 혹은 집단 내 일부 또는 특정 세포 유형이 증식된 혼합 집단일 수 있다. 용어 "증식 방법"은 증식 또는 증식된 집단을 초래하는 과정을 의미하는 것으로 이해될 것이다. 따라서, 증식 또는 증식된 집단은 증식 단계가 수행되지 않았거나 증식 단계 이전인 집단에 비해 수가 더 많거나 더 많은 수의 세포를 포함할 수 있다. 증식(예를 들어, 배수-증가 또는 배수-증식)을 나타내기 위해 본 명세서에 지칭되는 모든 숫자는 세포 집단의 수 또는 크기 또는 세포 수의 증가를 예시하며, 증식의 양을 나타내는 것으로 추가로 이해될 것이다.

- [0121] 일 실시예에서, 상기 방법은 세포 집단을 5일 이상 동안(예를 들어, 6일 이상, 7일 이상, 8일 이상, 9일 이상, 10일 이상, 11일 이상, 12일 이상, 13일 이상, 14일 이상, 18일 이상, 21일 이상, 28일 이상, 또는 그 이상, 예를 들어 5일 내지 40일, 7일 내지 35일, 14일 내지 28일 또는 약 21일) 배양하는 것을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 방법은 7일 이상 동안, 예를 들면 11일 이상 또는 14일 이상, 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.
- [0122] 추가 실시예에서, 상기 방법은 $\gamma \delta$ T 세포의 증식된 집단을 생성하기에 효과적인 기간동안(예를 들어, 5일 이상, 6일 이상, 7일 이상, 8일 이상, 9일 이상, 10일 이상, 11일 이상, 12일 이상, 13일 이상, 14일 이상, 18일 이상, 21일 이상, 28일 이상, 또는 그 이상, 예를 들어 5일 내지 40일, 7일 내지 35일, 14일 내지 28일 또는 약 21일) 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.
- [0123] 일 실시예에서, 세포 집단은 5 내지 60일, 예를 들면 적어도 7 내지 45일, 7 내지 21일, 또는 7 내지 18일의 기간 동안 배양된다. 상기 방법이 단리 배양 기간(예를 들어, 1 내지 40일로 예를 들어 14 내지 21일)을 포함하는 경우, 단리 및 증식 단계는 일부 실시예에서 21 내지 39일 동안 지속될 수 있다.
- [0124] 상기 방법은 배양 동안 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편 및/또는 성장 인자의 규칙적인 첨가를 포함할 수 있다. 예를 들어, 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편 및/또는 성장 인자는 2 내지 5일마다, 더욱 바람직하게는 3 내지 4일마다 첨가될 수 있다. 일 실시예에서, 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편 및/또는 성장 인자는 배양 7일 후 및 이후 3 내지 4일마다 첨가된다.
- [0125] 증식 방법은 참조 집단보다 더 많은 수의 $\gamma \delta$ T 세포의 증식된 집단을 제공한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 증식 단계 이전의 $\gamma \delta$ T 세포의 단리된 집단보다 수가 더 많다(예를 들어, 증식 단계 이전의 $\gamma \delta$ T 세포의 단리된 집단에 비해 2배 이상의 수, 5배 이상의 수, 10배 이상의 수, 25배 이상의 수, 50배 이상의 수, 60배 이상의 수, 70배 이상의 수, 80배 이상의 수, 90배 이상의 수, 100배 이상의 수, 200배 이상의 수, 300배 이상의 수, 400배 이상의 수, 500배 이상의 수, 600배 이상의 수, 1,000배 이상의 수 또는 그 이상). 일 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 항체 또는 이의 단편이 없이 동일한 기간 동안 배양된 집단보다 수가 더 많다. 일 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 TS8.2 또는 TS 1의 존재 하에 동일한 기간 동안 배양된 집단보다 수가 더 많다.
- [0126] 증식 방법은 참조 집단보다 더 높은 비율의 V δ 1 T 세포를 갖는 $\gamma \delta$ T 세포의 증식된 집단을 제공한다. 일부 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 약 50% 초과, 예를 들어 약 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 87%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 또는 95% 초과인 V δ 1 T 세포를 포함한다. 추가 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 약 85% 초과인 V δ 1 T 세포, 예를 들어 약 90% 초과인 V δ 1 T 세포를 함유한다.
- [0127] 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 약 10% 미만, 예를 들어 약 5%, 4%, 3%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, 0.2%, 0.1% 또는 0.05% 미만의 $\alpha \beta$ T 세포를 함유한다. 추가 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 약 1% 미만의 $\alpha \beta$ T 세포를 함유한다. $\alpha \beta$ 수용체를 갖는 T 세포는 반응성이 높기 때문에, 본 발명의 맥락에서 환자에게 투여하기에 적절한 세포 집단은 낮은 수준의 $\alpha \beta$ T 세포만을 함유할 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체는, $\alpha \beta$ T 세포를 제거하기 위해 증식 후 광범위한 정제 방법에 대한 필요성을 감소시키는 V δ 1 T 세포 집단을 선택적으로 증식하는 데 사용될 수 있다.
- [0128] 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 약 10% 미만, 예를 들어 약 5%, 4%, 3%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5%, 0.2%, 0.1% 또는 0.05% 미만의 V δ 2 T 세포를 함유한다. 추가 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 약 0.5% 미만의 V δ 2 T 세포를 함유한다.
- [0129] 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)의 증식된 집단은 약 10% 미만, 예를 들어 약 5%, 4%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5% 또는 1% NK(Natural Killer) 세포(CD56+CD3- 세포라고도 칭한다)를 함유한다. 추가 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 약 2% 미만의 NK 세포를 함유한다.

- [0130] 세포 표면 마커의 발현 증가 또는 감소는 V δ 1 T 세포의 하나 이상의 증식된 집단을 특징짓기 위해 부가적으로 또는 대안적으로 사용될 수 있으며, CD27, CD69, TIGIT, PD-1 및 TIM-3을 포함한다. 일부 실시예에서, V δ 1 T 세포의 확장된 집단은 높은 수준의 CD27(CD27^{high})을 발현한다. 예를 들어, 약 70% 초과, 예를 들어 약 80%, 85%, 90% 초과 V δ 1 T 세포의 증식된 집단이 CD27(즉, CD27+)을 발현한다. 일부 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은, 예를 들어 증식 전의, V δ 1 T 세포의 단리된 집단에 비해 평균 CD27의 발현이 더 크다. 일부 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 낮은 수준의 CD69, TIGIT, PD 1 및/또는 TIM-3을 발현한다. 예를 들어, 약 40% 미만, 예를 들어 약 30% 미만의 V δ 1 T 세포의 확장된 집단이 CD69, TIGIT, PD 1 및/또는 TIM-3을 발현한다. 일부 실시예에서, V δ 1 T 세포의 증식된 집단은 V δ 1 T 세포의 단리된 집단에 비해 CD69, TIGIT, PD 1 및 TIM-3으로 이루어진 군으로부터 선택된 마커 중 하나 이상의 평균 발현이 더 낮다.
- [0131] γ δ T 세포의 증식에 사용하기에 적합한 수많은 기본 배양 배지, 특히 AIM-V, Iscoves 배지 및 RPMI-1640(Life Technologies), EXVIVO-10, EXVIVO-15 또는 EXVIVO-20(Lonza)와 같은 배지가 혈청 또는 혈장 존재 하에 이용 가능하다. 배지에는 혈청, 혈청 단백질 및 항생제와 같은 선택적 제제와 같은 본 명세서에 정의된 다른 배지 인자를 보충할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시예에서, RPMI-1640 배지는 2mM 글루타민, 10% FBS, 10mM HEPES, pH 7.2, 1% 페니실린-스트렙토마이신, 피루브산나트륨(1mM; Life Technologies), 비필수 아미노산(예를 들어, 100 μ M Gly, Ala, Asn, Asp, Glu, Pro 및 Ser, 1X MEM 비필수 아미노산(Life Technologies)) 및 10 μ l/L β -메르캅토에탄올을 포함한다. 다른 실시예에서, AIM-V 배지는 CTS 면역 혈청 대체제 및 암포테리신 B로 보충될 수 있다. 특정 실시예에서, 배지는 본 명세서에 기재된 바와 같이 IL-2, IL-4, IL-9 및/또는 IL-15로 추가로 보충될 수 있다. 간편하게, 세포는 단리 및/또는 증식 동안 적절한 배양 배지에서 5% CO₂를 함유하는 가습 분위기의 37°C에서 배양된다.
- [0132] γ δ T 세포의 증식 배양물에 다른 인자를 추가하는 것도 사용될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 인자는 γ δ T 세포의 증식을 선택적으로 촉진하는 증식에 사용된다. 예를 들어, 증식은 증식 배양물에 인터루킨과 같은 외인성 사이토카인의 첨가를 추가로 포함할 수 있다. 상기 증식은 IL-2 및 IL-15의 존재 하에 γ δ T 세포를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 또는, 증식은 IL-9 및 IL-15의 존재 하에 γ δ T 세포를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 모든 증식 단계는 γ δ T 세포의 증식된 집단을 생성하는 데 효과적인 기간 동안 수행되는 것은 당연하다.
- [0133] γ δ T 세포를 증식하는 방법은 5일 미만(예를 들어, 4.5일 미만, 4.0일 미만, 3.9일 미만, 3.8일 미만, 3.7일 미만, 3.6일 미만, 3.5일 미만, 3.4일 미만, 3.3일 미만, 3.2일 미만, 3.1일 미만, 3.0일 미만, 2.9일 미만, 2.8일 미만, 2.7일 미만, 2.6일 미만, 2.5일 미만, 2.4일 미만, 2.3일 미만, 2.2일 미만, 2.1일 미만, 2.0일 미만, 46시간 미만, 42시간 미만, 38시간 미만, 35시간 미만, 32시간 미만)의 기간 동안 세포 집단을 배양하는 것을 포함한다.
- [0134] **γ δ T 세포를 단리하는 방법**
- [0135] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 항체(또는 이의 단편)는 배양물 중의 γ δ T 세포, 즉 시료로부터 수득된 γ δ T 세포에 적용될 수 있다. 일 실시예에서, 세포 집단은 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하기 전에 시료로부터 단리된다. 따라서 시료로부터 단리된 γ δ T 세포 집단(예를 들어, V δ 1 T 세포를 포함하는 세포 집단)에 본 명세서에 정의된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편을 투여하는 것을 포함하는 V δ 1 T를 변형(특히, 증식)하는 방법이 제공된다.
- [0136] 비-조혈조직에 우세한(즉, 조직 상재) γ δ T 세포는 주로 델타 가변 1 사슬을 함유하므로, 본 명세서에 기재된 항-V δ 1 항체는 특히 비-조혈조직으로부터 단리된 γ δ T 세포에서 사용된다. 따라서, 일 실시예에서, 시료는 피부와 같은 비-조혈조직 시료이다. 또는, 본 발명의 방법은 예를 들어 혈액 시료와 같이 V δ 1 사슬 주로 함유하지 않는 시료에서 V δ 1 T 세포의 집단을 증식하는데 사용될 수 있다. 따라서, 상기 방법은 시료에서 V δ 1 T 세포의 수를 증가시키는 데 사용될 수 있다.
- [0137] 본 명세서에서 세포, 특히 γ δ T 세포의 "단리" 또는 "단리하는 것"이라 함은 세포가 제거, 분리, 정제, 농축 또는 다른 방법으로 조직 또는 세포의 풀로부터 꺼내어지는 방법 또는 공정을 지칭한다. 상기 지칭은 "분리된", "제거된", "정제된", "농축된" 등의 용어를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. γ δ T 세포의 단리는 온전한 비-조혈조직 시료 또는 비-조혈조직의 기질세포(예를 들어, 섬유아세포 또는 상피세포)로부터 세포를 단리 또는 분리하는 것을 포함한다. 상기 단리는 대안적으로 또는 부가적으로 다른 조혈 세포(예를 들어, α β T 세포 또는 다른 림프구)로부터의 γ δ T 세포의 단리 또는 분리를 포함할 수 있다. 단리는 정의된 기간 동안 수

행될 수 있으며, 예를 들어 조직 외식편(explant) 또는 생검을 단리 배양물에 넣을 때 시작하여 단리된 세포 집단을 증식 배양물로 옮기거나 다른 목적으로 사용하기 위하여 원심분리 또는 다른 수단에 의해 세포가 배양액으로부터 수집되거나, 혹은 원래의 조직 외식편 또는 생검이 배양액에서 제거될 때 종료된다. 단리 단계는 최소 약 3일 내지 약 45일 동안일 수 있다. 일 실시예에서, 단리 단계는 약 10일 이상 내지 28 일 이상 동안이다. 추가 실시예에서, 단리 단계는 14일 이상 내지 21일 이상 동안이다. 따라서 단리 단계는 최소 3일, 4일, 5일, 6일, 7일, 8일, 9일, 10일, 11일, 12일, 13일, 14일, 15일, 16일, 17일, 18일, 19일, 20일, 21일, 22일, 23일, 24일, 25일, 26일, 27일, 28일, 29일, 30일, 31일, 32일, 약 35일, 약 40일 또는 약 45일 동안일 수 있다. 세포 증식이 상기 단리 단계동안 큰 규모로 일어나는 것은 아니지만, 전혀 일어나지 않아야 하는 것이 아님은 당연하다. 실제로 당업자에게는 단리된 세포가 또한 분열을 시작하여 시료를 포함하는 단리 용기 내에서 다수의 상기 세포를 생성 할 수 있다는 것이 인정된다.

[0138] 따라서, 본 명세서에서 "단리된 $\gamma\delta$ T 세포", "단리된 $\gamma\delta$ T 세포 집단", 또는 " $\gamma\delta$ T 세포의 단리된 집단"이라 함은 세포가 온전한 (비-조혈조직) 시료 내에 함유된 세포와 실질적으로 접촉하지 않도록 원래의 비-조혈조직 시료와 같은 시료로부터 단리, 분리, 제거, 정제 또는 농축된 $\gamma\delta$ T 세포를 지칭한다. 본 명세서에서 "단리된 V δ 1 T 세포", "단리된 V δ 1 T 세포 집단", "V δ 1 T 세포의 단리된 집단", "분리된 V δ 1 T 세포", "분리된 V δ 1 T 세포 집단" 또는 "V δ 1 T 세포의 분리된 집단"이라 함은 세포가 온전한 (비-조혈조직) 시료 내에 함유된 세포와 실질적으로 접촉하지 않도록 원래의 비-조혈조직 시료와 같은 시료로부터 단리, 분리, 제거, 정제 또는 농축된 V δ 1 T 세포를 지칭한다.

[0139] 세포 집단은 비-조혈조직 시료와 같은 인간 또는 비-인간 동물 시료로부터 림프구, 특히 V δ 1 T 세포의 단리를 허용하는 임의의 적당한 방법에 의해 수득될 수 있다. 이러한 방법 중 하나는 Clark et al. (2006) *J. Invest. Dermatol.* 126(5): 1059-70에 공개되었으며, 이는 인간 피부에서 림프구를 단리하기 위한 3차원 피부 이식 프로토콜을 기술한다. 외식편에서 스캐폴드로 림프구가 용이하게 유출되도록 외식편은 합성 스캐폴드에 부착될 수 있다. 합성 스캐폴드는 세포 성장을 지지하기에 적절한 비천연 3차원 구조를 지칭한다. 합성 스캐폴드는 고분자(예를 들어, 천연 또는 합성 폴리머, 예를 들어, 폴리 비닐 피롤리돈, 폴리메틸메타크릴레이트, 메틸 셀룰로스, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 폴리우레탄), 세라믹(예를 들어, 제삼인산칼슘, 알루미늄산 칼슘, 수산화인회석 칼슘(calcium hydroxyapatite)) 또는 금속(예를 들어, 탄탈, 티타늄, 백금 및 백금과 같은 족의 금속, 니오븀, 하프늄, 텅스텐 및 이들 조합의 합금)과 같은 물질로 구성될 수 있다. 생물학적 인자(예를 들어, 콜라겐 (예를 들어, 콜라겐 I 또는 콜라겐 II), 피브로넥틴, 라미닌, 인테그린, 혈관형성 인자, 항염증 인자, 글리코사미노글리칸, 비트로젠, 항체 및 이의 단편, 사이토카인(예를 들어, IL-2 또는 IL-15, 및 이들의 조합)이 당업계에 공지된 방법에 따라 스캐폴드 표면에 코팅되거나, 스캐폴드 소재 내에 캡슐화되어 세포 부착, 이동, 생존 또는 증식을 증진시킬 수 있다. 이 방법 및 다른 방법은 예를 들어 장, 전립선 및 유방과 같은 다수의 다른 비-조혈조직 유형으로부터 세포 집단을 단리하는데 사용할 수 있다. 적절한 단리 방법의 다른 예는 다른 비-조혈조직 유형, 예를 들어, 장, 전립선 및 유방 적절한 분리 방법의 다른 예는 V δ T 세포, 특히 V δ 1 T 세포의 단리 또는 분리를 유도하기에 충분한 사이토카인 및/또는 케모카인의 존재 하에 세포 집단 및/또는 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있는 "크롤아웃(crawl-out)" 방법을 활용한다. 시료(예를 들어, 비-조혈조직 시료)로부터 $\gamma\delta$ T 세포의 단리는 IL-2 및 IL-15의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다.

[0140] 비-조혈조직 상재 림프구는 진피 섬유아세포와 같은 기질 세포로부터 예를 들어 능숙한 피켓팅에 의해 수집 및 분리할 수 있다. 림프구 수집물은 공정 동안 느슨해질 수 있는 섬유아세포 응집체를 유지하기 위해 40 μ m 나일론 메쉬를 통해 추가로 세척될 수 있다. 림프구는 또한 예를 들어 CD45 항체를 사용한 형광 또는 자기 관련 세포 분류를 사용하여 단리될 수 있다.

[0141] 또는 시료(예를 들어, 조혈조직 시료)로부터 $\gamma\delta$ T 세포의 단리는 W02012/156958에 기술된 바와 같이 T 세포 미토젠(예를 들어, $\gamma\delta$ TCR 작용제) 및 사이토카인(특히 사이토카인의 공통 사이토카인 수용체 감마-사슬(γ c) 패밀리의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 또 다른 대안으로서, 시료(예를 들어, 조혈조직 시료)로부터 $\gamma\delta$ T 세포의 단리는 W02016/198480에 기술된 바와 같이 T 세포 미토젠 및 사이토카인의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다.

[0142] $\gamma\delta$ T 세포의 단리는 적어도 하나의 사이토카인의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 방법은 케모카인과 같은 적어도 하나의 물질의 존재 하에 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 케모카인은 단리되는 $\gamma\delta$ T 세포에 따라 선택되는 것은 당연하다. 또한, 케모카인은 $\gamma\delta$ T 세포의 단리에 사용되는 시료에 따라 변화하고, 선택되어 진다.

- [0143] $\gamma \delta$ T 세포의 단리는 적어도 하나의 사이토카인의 존재 하에 시료를 추가로 배양하는 것을 포함할 수 있다. 상기 사이토카인은 초기 배양에 사용된 사이토카인과 상이할 수 있다.
- [0144] 단리 방법은 시료를 배양하는 것을 포함할 수 있다. 본 명세서에서 "배양"이라 함은 시료로부터 단리, 분리, 제거, 정제 또는 농축된 세포를 포함하는 시료를 세포 및/또는 시료에 필요하거나 유리한 성장 인자 및/또는 필수 영양소를 포함하는 배지에 첨가하는 것을 포함한다. 상기 배양 조건은 시료로부터 단리될 세포 또는 세포 집단에 따라 변경될 수 있거나, 시료로부터 단리 및 증식될 세포 또는 세포 집단에 따라 변경될 수 있음은 당연하다.
- [0145] 특정 실시예에서, 시료의 배양은 시료로부터 $\gamma \delta$ T 세포를 단리하기에 충분한 기간 동안 이루어진다. 특정 실시예에서, 배양 기간은 14일 이상이다. 특정 실시예에서, 배양 기간은 45일 미만으로, 예를 들어 30일 미만, 예를 들어 25일 미만이다. 추가 실시예에서, 배양 기간은 14일 내지 35일, 예를 들어 14일 내지 21일이다. 또 다른 실시예에서, 배양 기간은 약 21일이다.
- [0146] 특정 실시예에서, $\gamma \delta$ T는 시료의 배양 후에 배양물로부터 수집된다. $\gamma \delta$ T 세포의 수집은 배양물로부터 $\gamma \delta$ T 세포의 물리적 수집, 다른 림프구(예를 들어, $\alpha \beta$ T 세포 및/또는 NK 세포)로부터 $\gamma \delta$ T 세포의 단리 또는 시료에 존재하는 다른 세포, 예를 들어 섬유아세포와 같은 기질 세포로부터 $\gamma \delta$ T 세포의 단리 및/또는 분리가 포함될 수 있다. 일 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 기계적 수단(예를 들어, 피펫팅)에 의해 수집된다. 추가 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 자기 분리 및/또는 표지에 의해 수집된다. 또 다른 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 FACS와 같은 유세포 분석 기술에 의해 수집된다. 따라서, 특정 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 $\gamma \delta$ T 세포를 특이적 표지하는 것에 의해 수집된다. $\gamma \delta$ T 세포의 상기 수집은 시료의 배양물로부터의 물리적 제거, 별도의 배양 용기로의 이동, 또는 별개의 또는 상이한 배양 조건으로의 이동을 포함할 수 있음은 당연하다.
- [0147] $\gamma \delta$ T 세포의 상기 수집은 시료로부터 $\gamma \delta$ T 세포의 단리된 집단을 획득하기에 충분한 기간 후에 수행되는 것은 당연하다. 특정 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 시료의 배양의 1주 이상, 10일 이상, 11일 이상, 12일 이상, 13일 이상 또는 14일 이상 후에 수집된다. 적절하게는, $\gamma \delta$ T 세포는 40일 이하, 예를 들어 38일 이하, 36일 이하, 34일 이하, 32일 이하, 30일 이하, 28일 이하, 26일 이하 또는 24일 이하 후에 수집된다. 일 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 시료 배양의 14일 이상 후에 수집된다. 추가 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포는 시료의 배양 14 내지 21일 후에 수집된다.
- [0148] 일 실시예에서, 시료는 실질적으로 없는 혈청이 배지(예를 들어, 무혈청 배지 또는 혈청-대체제(SR)를 함유하는 배지)에서 배양된다. 따라서, 일 실시예에서, 시료는 무혈청 배지에서 배양된다. 상기 무혈청 배지는 또한 혈청 대체제 배지를 포함할 수 있으며, 여기서 혈청 대체제는 인간 또는 동물 유래 혈청의 사용을 피하기 위하여 화학적으로 정의된 성분을 기반으로 한다. 일 실시예에서, 배지는 동물 유래 제품을 함유하지 않는다. 다른 실시예에서, 시료는 혈청(예를 들어, 인간 AB 혈청 또는 소태아혈청(FBS))을 함유하는 배지에서 배양된다.
- [0149] 배양 배지는 $\gamma \delta$ T 세포의 성장 및 증식을 도울 수 있는 다른 성분을 추가로 포함할 수 있다. 추가될 수 있는 다른 성분의 예로는 혈장 또는 혈청, 알부민과 같은 정제된 단백질, 저밀도 지단백질(LDL)과 같은 지질원(lipid source), 비타민, 아미노산, 스테로이드 및 세포 성장 및/또는 생존을 지원하거나 촉진하는 모든 기타 보충제를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.
- [0150] 혈액에 우세한 $\gamma \delta$ T 세포는 주로 V δ 2 T 세포인 반면, 비-조혈조직에서 우세한 $\gamma \delta$ T 세포는 주로 V δ 1 T 세포로, V δ 1 T 세포는 비-조혈조직-상재 $\gamma \delta$ T 세포 집단의 약 70-80%를 차지한다. 바람직한 일 실시예에서, 단리된 $\gamma \delta$ T 세포는 V δ 1 T 세포의 집단을 포함한다.
- [0151] **항체 또는 이의 단편**
- [0152] 본 명세서에서는 V δ 1 T 세포 수용체(TCR)의 델타 가변 1 사슬(V δ 1)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편이 제공된다.
- [0153] 일 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, 가변 도메인(예를 들어, VH 또는 VL), 디아바디, 미니바디 또는 단일클론 항체이다. 추가 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 scFv이다.
- [0154] 본 명세서에 기재된 항체는 임의의 부류, 예를 들어, IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, 또는 이의 이소타입과 같은 항체일 수 있으며, 카파(kappa) 또는 람다(lambda) 경 사슬을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 항체는 IgG 항체, 예를 들어, 아이소타입, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중 적어도 하나이다. 추가 실시예에서, 항체는 Fc를 돌연변이시켜 작동체 기능을 감소시키거나 반감기를 연장하거나 ADCC를 변경하거나 또는 인지 안정성을 개선하기는

것과 같이 원하는 특성을 부여하도록 변형된 IgG 형태와 같은 형태일 수 있다. . 이러한 변형은 당업계에 공지되어 있다.

- [0155] 일 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 인간이다. 따라서, 항체 또는 이의 단편은 인간 면역글로불린(Ig) 서열로부터 유래될 수 있다. 항체(또는 이의 단편)의 CDR, 프레임워크 및/또는 불변 영역은 인간 Ig 서열, 특히 인간 IgG 서열로부터 유래될 수 있다. CDR, 프레임워크 및/또는 불변 영역은 인간 Ig 서열, 특히 인간 IgG 서열에 대해 실질적으로 동일할 수 있다. 인간 항체를 사용하는 이점은 인간에게 면역원성이 낮거나 없다는 것이다.
- [0156] 항체 또는 그의 단편은 또한 키메라, 예를 들어 마우스-인간 항체 키메라일 수 있다.
- [0157] 또는, 항체 또는 이의 단편은 마우스와 같은 비-인간 종으로부터 유래된다. 상기 비-인간 항체는 인간에서 자연적으로 생성된 항체 변이체에 대한 유사성을 증가시키도록 변형될 수 있으며, 따라서 항체 또는 이의 단편은 부분적으로 또는 완전히 인간화될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 인간화된다.
- [0158] 에피토프를 표적으로 하는 항체
- [0159] 본 명세서에서 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬의 에피토프에 결합하는 항체(또는 이의 단편)가 제공된다. 상기 결합은 $\gamma \delta$ TCR 활성화에 대한 활성화 또는 억제와 같은 영향을 선택적으로 가질 수 있다.
- [0160] 일 실시예에서, 에피토프는 $\gamma \delta$ T 세포의 활성화 에피토프일 수 있다. "활성화" 에피토프는 예를 들어 탈과립화, TCR 하향조절, 세포독성, 증식, 동원(mobilisation), 생존 또는 피로에 대한 저항의 증가, 세포내 신호전달, 사이토카인 또는 성장인자 분비, 표현형 변화 또는 유전자 발현의 변화와 같은 TCR 기능의 자극을 포함할 수 있다. 예를 들어, 활성화 에피토프의 결합은 $\gamma \delta$ T 세포 집단, 바람직하게는 V δ 1+ T 세포 집단의 증식을 자극할 수 있다. 따라서, 이들 항체는 $\gamma \delta$ T 세포 활성화를 조절하고, 그에 의해 면역 반응을 조절하는데 사용될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 활성화 에피토프의 결합은 $\gamma \delta$ TCR을 하향조절한다. 부가적 또는 대안적 실시예에서, 활성화 에피토프의 결합은 $\gamma \delta$ T 세포의 탈과립을 활성화시킨다. 추가의 부가적 또는 대안적 실시예에서, 활성화 에피토프의 결합은 $\gamma \delta$ T 세포 사멸을 활성화시킨다.
- [0161] 또는, 항체(또는 이의 단편)는 다른 항체 또는 분자의 결합 또는 상호작용을 방해함으로써 차단 효과를 가질 수 있다. 일 실시예에서, 본 발명은 V δ 1을 차단하고 TCR 결합을 방해하는 (예를 들어, 입체 장애를 통해) 단리된 항체 또는 이의 단편을 제공한다. V δ 1을 차단하는 것에 의해 항체는 TCR 활성화 및/또는 신호전달을 방해할 수 있다. 에피토프는 $\gamma \delta$ T 세포의 억제 에피토프일 수 있다. "억제" 에피토프는 예를 들어 TCR 기능을 차단하는 것에 의해 TCR 활성화를 억제하는 것을 포함할 수 있다.
- [0162] 에피토프는 바람직하게는 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬의 적어도 하나의 세포외, 가용성, 친수성, 외부 또는 세포질 부분으로 구성된다.
- [0163] 특히, 에피토프는 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬, 특히 V δ 1 사슬의 CDR3의 초가변(hypervariable) 영역에서 발견되는 에피토프를 포함하지 않는다. 바람직한 실시예에서, 에피토프는 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬의 비-가변 영역 내에 있다. 상기 결합은 고도로 가변적인 TCR(특히 CDR3)의 서열에 제약없이 V δ 1 사슬의 고유한 인식을 허용하는 것은 당연하다. MHC-유사 펩타이드 또는 항원을 인식하는 다양한 $\gamma \delta$ TCR 복합체는 V δ 1 사슬의 존재만으로 이러한 방식으로 인식될 수 있다. 이와 같이, 모든 V δ 1 사슬-포함 $\gamma \delta$ TCR은 $\gamma \delta$ TCR의 특이성과 무관하게 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 또는 이의 단편을 사용하여 인식될 수 있음은 당연하다. 일 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 1-24 및/또는 35-90, 예를 들어 CDR1 및/또는 CDR3 서열의 일부가 아닌 V δ 1 사슬의 일부 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 일 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 91-105(CDR3) 내의 아미노산 잔기를 포함하지 않는다.
- [0164] 잘 특성화된 $\alpha \beta$ T 세포와 유사한 방식으로, $\gamma \delta$ T 세포는 $\alpha \beta$ T 세포보다 더 적은 수의 V, D 및 J 세그먼트를 함유하기는 하지만 $\gamma \delta$ T 세포는 체세포적으로 재배열된 가변(V), 다양성(D), 연결(J) 및 불변(C) 유전자의 고유한 세트를 활용한다. 일 실시예에서, 항체(또는 이의 단편)에 의해 결합된 에피토프는 V δ 1 사슬의 J 영역(예를 들어, 인간 텔타 1 사슬 생식계에 암호화된 4개의 J 영역 중 하나: 서열 번호: 131(J1*0) 또는 132(J2*0) 또는 133(J3*0) 또는 134(J4*0))에서 발견되는 에피토프를 포함하지 않는다. 일 실시예에서, 항체(또는 이의 단편)에 의해 결합된 에피토프는 V δ 1 사슬의 C-영역(예를 들어, C-말단 막외/막 횡단 영역을 함유하는 서열번호: 135(C1*0)에서 발견되는 에피토프를 포함하지 않는다. 일 실시예에서, 항체(또는 이의 단편)에 의해 결합된 에피토프는 V δ 1 사슬의 N-말단 리더 서열(예를 들어, 서열번호: 129)에서 발견되는 에피토프를 포함하지 않는다. 따라서 항체 또는 단편은 V δ 1 사슬의 V 영역(예를 들어, 서열번호: 130)에서만 결합할 수 있다. 따라

서, 일 실시예에서, 에피토프는 $\gamma \delta$ TCR의 V 영역 내의 에피토프(예를 들어, 서열번호: 1의 아미노산 잔기 1-90)로 이루어진다.

[0165] 에피토프라 함은 서열번호: 1로 표시되는 Luoma et al. (2013) Immunity 39: 1032-1042, 및 RCSB Protein Data Bank 항목: 4MNH 및 3OM에 기재된 서열로부터 유래된 V δ 1 서열과 관련하여 만들어진: 1:

[0166] AQKVTQAQSSVMPVRKAVTLNCLYETSWWSYIFWYKQLPSKEMIFLIRQGSDEQNAKSGRYSVNFKKAASVALTISALQLEDSAKYFCALGESLTRADKLIFGKGTRVTVEPNIQNPDPVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPSS (서열번호: 1)

[0167] 서열번호: 1은 V 영역(가변 도메인이라고도 지칭함), D 영역, J 영역 및 TCR 불변 영역을 포함하는 가용성 TCR을 나타낸다. V 영역은 아미노산 잔기 1-90을 포함하고, D 영역은 아미노산 잔기 91-104를 포함하고, J 영역은 아미노산 잔기 105-115를 포함하고, 불변 영역은 아미노산 잔기 116-209를 포함한다. V 영역 내에서, CDR1은 서열번호: 1의 아미노산 잔기 25-34로 정의되고, CDR2는 서열번호: 1의 아미노산 잔기 50-54로 정의되고, CDR3은 서열번호: 1의 아미노산 잔기 93-104로 정의된다 (Xu et al., PNAS USA 108(6):2414-2419 (2011)).

[0168] 따라서, 일 실시예에서, 단리된 항체 또는 이의 단편은

[0169] (i) 서열번호: 1의 3-20 ; 및/또는

[0170] (ii) 서열번호: 1의 37-77

[0171] 의 아미노산 영역 내에 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 $\gamma \delta$ T 세포 수용체(TCR)의 가변 델타 1(V δ 1) 사슬의 에피토프에 결합한다.

[0172] 추가 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 128의 아미노산 잔기 1-90 에피토프를 포함하는 다형성 V 영역을 추가로 인식한다. 따라서, 서열번호: 1의 아미노산 1-90 및 다형성 생식계 변이체 서열(서열번호: 128의 아미노산 1-90)은 본 명세서에 기재된 에피토프를 정의할 때 상호교환가능한 것으로 간주될 수 있다. 본 발명의 항체는 상기 생식계 서열의 두 변이체를 모두 인식할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 정의된 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 1의 아미노산 영역 1-24 및/또는 35-90 내에서 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 에피토프를 인식한다고 하는 경우, 이는 또한 서열번호: 128의 동일한 영역; 구체적으로 서열번호: 128의 아미노산 영역 1-24 및/또는 35-90을 지칭한다.

[0173] 일 실시예에서, 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 1의 아미노산 영역 1-90 내의 하나 이상의 아미노산 잔기 및 서열번호: 128의 아미노산 영역 1-90의 동등하게 위치된 아미노산을 인식한다. 보다 구체적으로, 일 실시예에서 본 명세서에 정의된 바와 같은 항체 또는 이의 단편은 인간 생식계 에피토프를 인식하며, 여기서 상기 생식계는 서열번호: 1의 위치 71에서 알라닌(A) 또는 발린(V)을 암호화한다.

[0174] 일 실시예에서, 에피토프는 상기 기재된 영역 내에서 1개 이상, 예를 들어 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0175] 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 3-20 내에 하나 이상(예를 들어, 5개 이상, 예를 들어 10개 이상)의 아미노산 잔기를 포함한다. 다른 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 37-77(예를 들어, 아미노산 영역 50-54) 내에서 하나 이상(예를 들어, 5개 이상, 예를 들어 10개 이상)의 아미노산 잔기를 포함한다. 또 다른 추가 실시예에서, 에피토프는 아미노산 영역 3-20(예를 들어, 5-20 또는 3-17) 내의 하나 이상(예를 들어, 5개 이상, 예를 들어 10개 이상)의 아미노산 잔기와 서열번호: 1의 아미노산 영역 37-77(예를 들어, 62-77 또는 62-69) 내의 하나 이상(예를 들어, 5개 이상, 예를 들어 10개 이상)의 아미노산 잔기를 포함한다.

[0176] 상기 항체(또는 이의 단편)는 정의된 범위 내의 모든 아미노산에 결합할 필요는 없음은 당연하다. 상기 에피토프는 선형 에피토프라고 지칭할 수 있다. 예를 들어, 서열번호: 1의 아미노산 영역 5-20 내의 아미노산 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는 항체는 예를 들어 상기 범위의 각 말단의 아미노산 잔기(즉, 아미노산 3 및 20), 선택적으로 범위 내의 아미노산(즉, 아미노산 5, 9, 16 및 20)을 포함하는, 상기 범위 내의 하나 이상의 아미노산 잔기와만 결합할 수 있다.

[0177] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 20, 37, 42, 50, 53, 59, 62, 64, 68, 69, 72 중 하나 이상을 포함한다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 20, 37, 42, 50, 53, 59, 62, 64, 68, 69, 72 또는 77로부터 선택된 1, 2, 3, 4,

5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개의 아미노산을 포함한다.

- [0178] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1(또는 상기 기재된 서열번호: 128)의 하기 아미노산 영역 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다:
- [0179] (i) 3-17;
- [0180] (ii) 5-20;
- [0181] (iii) 37-53;
- [0182] (iv) 50-64;
- [0183] (v) 59-72;
- [0184] (vi) 59-77;
- [0185] (vii) 62-69; 및/또는
- [0186] (viii) 62-77.
- [0187] 추가 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역: 5-20 및 62-77; 50-64; 37-53 및 59-72; 59-77; 또는 3-17 및 62-69 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역: 5-20 및 62-77; 50-64; 37-53 및 59-72; 59-77; 또는 3-17 및 62-69 내의 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성된다.
- [0188] 추가 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68 및 69를 포함하거나, 적절하게는 서열번호: 1의 아미노산 잔기 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68 및 69으로 구성된다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 및 77을 포함하거나, 적절하게는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 및 77로 구성된다. 또 다른 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 및 77을 포함하거나, 또는 적절하게는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 및 77로 구성된다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 50, 53, 59, 62 및 64를 포함하거나, 또는 적절하게는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 50, 53, 59, 62 및 64로 구성된다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 59, 60, 68 및 72를 포함하거나, 또는 적절하게는 서열번호: 1의 아미노산 잔기: 59, 60, 68 및 72로 구성된다.
- [0189] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 5-20 및/또는 62-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 5-20 및 62-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성된다. 다른 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 5-20 또는 62-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 상기 에피토프를 갖는 항체 또는 이의 단편은 1245_P01_E07의 서열의 일부 또는 전부를 가질 수 있거나, 상기 항체 또는 이의 단편은 1245_P01_E07로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 1245_P01_E07의 하나 이상의 CDR 서열 또는 1245_P01_E07의 VH 및 VL 서열 중 하나 또는 둘 모두를 갖는 항체 또는 이의 단편은 상기 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0190] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 50-64 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 50-64 내의 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성된다. 상기 에피토프를 갖는 항체 또는 이의 단편은 1252_P01_C08의 서열의 일부 또는 전부를 가질 수 있거나, 상기 항체 또는 이의 단편은 1252_P01_C08로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 1252_P01_C08의 하나 이상의 CDR 서열 또는 1252_P01_C08의 VH 및 VL 서열 중 하나 또는 둘 모두를 갖는 항체 또는 이의 단편은 상기 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0191] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 37-53 및/또는 59-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 37-53 및/또는 59-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성된다. 다른 추가 실시예에서, 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 37-53 및/또는 59-77 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 상기 에피토프를 갖는 항체 또는 이의 단편은 1245_P02_G04의 서열의 일부 또는 전부를 가질 수 있거나, 상기 항체 또는 이의 단편은 1245_P02_G04로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 1245_P02_G04의 하나 이상의 CDR 서열 또는 1245_P02_G04의 VH 및 VL 서열 중 하나 또는 둘 모두를 갖는 항체 또는 이의 단편은 상기 에피토프에 결합할 수 있다.

- [0192] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 59-72 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 59-72 내의 하나 이상의 아미노산 잔기로 구성된다. 상기 에피토프를 갖는 항체 또는 이의 단편은 1251_P02_C05의 서열의 일부 또는 전부를 가질 수 있거나, 상기 항체 또는 이의 단편은 1251_P02_C05로부터 유래될 수 있다. 예를 들어, 1251_P02_C05의 하나 이상의 CDR 서열 또는 1251_P02_C05의 VH 및 VL 서열 중 하나 또는 둘 모두를 갖는 항체 또는 이의 단편은 상기 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0193] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 11-21 내의 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 21-28 내의 아미노산 잔기를 포함하지 않는다. 일 실시예에서 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 59 및 60 내의 아미노산 잔기를 포함하지 않는다. 일 실시예에서 상기 에피토프는 서열번호: 1의 아미노산 영역 67-82 내의 아미노산 잔기를 포함하지 않는다.
- [0194] 일 실시예에서, 상기 에피토프는 TS-1 또는 TS8.2와 같이 시판되는 항-V δ 1 항체에 의해 결합된 동일한 에피토프가 아니다. W02017197347에 기재된 바와 같이, 가용성 TCR에 대한 TS-1 및 TS8.2의 결합은 δ 1 사슬이 V δ 1 J1 및 V δ 1 J2 서열을 포함하는 경우에 검출되지만 V δ 1 J3 사슬에는 결합하지 않아, TS-1 및 TS8.2의 결합은 델타 J1 및 델타 J2 영역에 매우 중요한 잔기가 포함되어 있음을 나타내었다.
- [0195] 본 명세서에서 "내(within)"이라 함은 정의된 영역의 말단을 포함한다. 예를 들어, "아미노산 영역 5-20 내"는 잔기 5를 포함하는 것으로부터 잔기 20을 포함하는 것까지의 모든 아미노산 잔기를 지칭한다.
- [0196] 항체에 어떤 항체가 결합되어 있는 지를 입증하기 위한 다양한 기술이 당업계에 공지되어 있다. 예시적인 기술은 예를 들어 일상적인 교차 차단 분석(routine cross-blocking assays), 알라닌 스캐닝 돌연변이 분석(alanine scanning mutational analysis), 펩타이드 블랏 분석(peptide blot analysis), 펩티드 절단 분석 결정학 연구(peptide cleavage analysis crystallographic studies) 및 NMR 분석을 포함한다. 또한 에피토프 절제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법을 사용할 수 있다. 항체가 상호작용하는 폴리펩타이드 내의 아미노산을 확인하는 데 사용할 수 있는 다른 방법은 (실시예 9에 기술되는 바와 같은) 질량 분석법에 의해 검출된 수소/중수소 교환이다. 일반적으로 수소/중수소 교환법은 관심 단백질을 중수소로 표지한 후 항체를 중수소가 표지된 단백질에 결합시키는 것을 포함한다. 다음, 단백질/항체 복합체는 물로 옮겨지고 항체 복합체에 의해 보호된 아미노산 내의 교환 가능한 양성자는 계면의 일부가 아닌 아미노산 내의 교환 가능한 양성자보다 느린 속도로 중수소에서 수소로 역교환을 진행한다. 그 결과, 단백질/항체 계면의 일부를 형성하는 아미노산은 중수소를 보유할 수 있으므로, 계면에 포함되지 않은 아미노산에 비해 상대적으로 더 높은 질량을 나타낸다. 항체의 해리 후, 표적 단백질은 프로테아제 절단 및 질량 분석 분석의 대상이 되며, 그에 의해 항체와 상호작용하는 특정 아미노산에 해당하는 중수소 표지된 잔기를 드러낸다.
- [0197] 항체 서열
- [0198] 단리된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편은 그의 CDR 서열을 참조하여 기재될 수 있다.
- [0199] 일 실시예에서, 상기 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편은 다음 중 하나 이상을 포함한다:
- [0200] 서열번호: 2-25 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3;
- [0201] 서열번호: 26-37 및 서열: A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2; 및/또는
- [0202] 서열번호: 38-61 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1.
- [0203] 일 실시예에서, 상기 단리된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 2-25 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 26-37 및 (표 2의) 서열 A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 38-61 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다.
- [0204] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 2-25 중 어느 하나와 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 26-37 및 (표 2의) 서열: A1-A12 중 어느 하나와 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 38-

95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 14-19, 특히 14-18, 예를 들어 14, 15 또는 16 중 어느 하나와 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0213] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0214] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 90% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 90% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 90% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 90% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0215] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 서열번호: 8-13, 특히 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VH 영역 및/또는 서열번호: 20-25, 특히 20, 21, 22 또는 23 중 어느 하나와 95% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열로 이루어진 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다.

[0216] 본 명세서에서 "적어도 80%" 또는 "80% 이상"을 언급하는 실시예는 85%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 상동성과 같이 80% 이상의 모든 값을 포함하는 것으로 이해될 것이다. 일 실시예에서, 항체 또는 그의 단편은 특정 서열에 대해 90% 이상, 95% 이상, 97% 이상, 98% 이상 또는 99% 이상의 서열 상동성과 같이 85% 이상을 포함한다.

[0217] 백분을 서열 상동성 대신에, 상기 실시예는 또한 하나 이상의 아미노산 변화, 예를 들어 하나 이상의 추가, 치환 및/또는 결실로 정의될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 서열은 5개 이하의 아미노산의 변화, 예를 들어 3개 이하의 아미노산의 변화, 특히 2개 이하의 아미노산의 변화를 포함할 수 있다. 추가 실시예에서, 상기 서열은 5개 이하의 아미노산의 치환, 예를 들어 3개 이하의 아미노산의 치환, 특히 1 또는 2개의 아미노산의 치환을 포함할 수 있다. 예를 들어, 상기 항체 또는 이의 단편의 CDR3는 서열번호: 2-25 중 어느 하나 또는 더욱 적절하게는 이와 비교하여 2개 이하, 보다 적절하게는 1개 이하의 치환(들)을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0218] 적절하게는 서열번호: 2-61 및 서열: A1-A12에서의 상응하는 잔기와 상이한 CDR1, CDR2 또는 CDR3의 모든 잔기는 상응하는 잔기에 대한 보존적 치환이다. 예를 들어, 서열번호: 2-25에서의 상응하는 잔기와 상이한 CDR3의 모든 잔기는 상응하는 잔기에 대한 보존적 치환이다.

[0219] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 다음을 포함한다:

[0220] (i) 서열번호: 2-13 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VH 영역;

[0221] (ii) 서열번호: 26-37 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VH 영역;

[0222] (iii) 서열번호: 38-49 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VH 영역;

[0223] (iv) 서열번호: 14-25 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VL 영역;

[0224] (v) 서열: A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VL 영역; 및/또는

[0225] (vi) 서열번호: 50-61 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VL 영

역.

- [0226] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 다음을 갖는 중 사슬을 포함한다:
- [0227] (i) 서열번호: 2-13 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 VH 영역;
- [0228] (ii) 서열번호: 26-37 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VH 영역; 및
- [0229] (iii) 서열번호: 38-49 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VH 영역.
- [0230] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 다음을 갖는 경 사슬을 포함한다:
- [0231] (i) 서열번호: 14-25 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 VL 영역;
- [0232] (ii) 서열: A1-A12 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VL 영역; 및
- [0233] (iii) 서열번호: 50-61 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VL 영역.
- [0234] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 2, 3, 4, 5 또는 6, 예를 들어 2, 3, 4 또는 5, 특히 2, 3, 또는 4 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3을 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 26, 27, 28, 29 또는 30, 예를 들어 26, 27, 28 또는 29, 특히 26, 27 또는 28 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 38, 39, 40, 41 또는 42, 예를 들어, 38, 39, 40 또는 41, 특히 38, 39 또는 40 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다).
- [0235] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 그의 단편은 서열번호: 8, 9, 10 또는 11 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 32, 33, 34 또는 35 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR2를 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 44, 45, 46 또는 47 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR1을 포함하는 VH 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다).
- [0236] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 2의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 26의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 38의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3는 서열번호: 2의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 26의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 38의 서열로 이루어진다.
- [0237] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 3의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 27의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 39의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 3의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 27의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 39의 서열로 이루어진다.
- [0238] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 4의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 28의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 40의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 4의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 28의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 40의 서열로 이루어진다.
- [0239] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 5의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 29의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 41의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 5의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 29의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 41의 서열로 이루어진다.
- [0240] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 6의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 30의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 42의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 6의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 30의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 42의 서열로 이루어진다.
- [0241] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 8의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 32의 서열을 포함하는 CDR2,

및 서열번호: 44의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 8의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 32의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 44의 서열로 이루어진다.

[0242] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 9의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 33의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 45의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 9의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 33의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 45의 서열로 이루어진다.

[0243] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 10의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 34의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 46의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 10의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 34의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 46의 서열로 이루어진다.

[0244] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 11의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 35의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 47의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 11의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열번호: 35의 서열로 이루어지며, CDR1은 서열번호: 47의 서열로 이루어진다.

[0245] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 14-25, 예를 들어 14, 15, 16 또는 17과 같이 14, 15, 16, 17 또는 18, 특히 14, 15 또는 16 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 CDR3를 포함하는 VL 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 (표 2의) 서열: A1-A12, 예를 들어 A1, A2, A3 또는 A4와 같이 서열: A1, A2, A3, A4 또는 A5, 특히 A1, A2 또는 A3 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 CDR2를 포함하는 VL 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다). 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 50-61, 예를 들어 50, 51, 52 또는 53과 같이 서열번호: 50, 51, 52, 53 또는 54, 특히 50, 51 또는 52 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 CDR1를 포함하는 VL 영역을 포함한다(또는 이로 이루어진다).

[0246] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 14의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A1의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 50의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 14의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A1의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 50의 서열로 이루어진다.

[0247] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 15의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A2의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 51의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 15의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A2의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 51의 서열로 이루어진다.

[0248] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 16의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A3의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 52의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 16의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A3의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 52의 서열로 이루어진다.

[0249] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 17의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A4의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 53의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 17의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A4의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 53의 서열로 이루어진다.

[0250] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 18의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A5의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 54의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 18의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A5의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 54의 서열로 이루어진다.

[0251] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 20의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A7의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 56의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 20의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A7의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 56의 서열로 이루어진다.

[0252] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 21의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A8의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 57의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 21의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A8의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 57의 서열로 이루어진다.

[0253] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 22의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A9의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 58의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 22의 서열로 이루어지고, CDR2는 서열: A9의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 58의 서열로 이루어진다.

[0254] 일 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 23의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A10의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 59의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, CDR3은 서열번호: 23의 서열로 이루어지고,

CDR2는 서열: A10의 서열로 이루어지고, CDR1은 서열번호: 59의 서열로 이루어진다.

- [illegible]

의 서열로 이루어지고, LCDR3는 서열번호: 21의 서열로 이루어지고, LCDR2는 서열: A8의 서열로 이루어지며, LCDR1은 서열번호: 57의 서열로 이루어진다.

[0263] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 10의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 34의 서열을 포함하는 CDR2, 서열번호: 46의 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열번호: 22의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A9의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 58의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, HCDR3는 서열번호: 10의 서열로 이루어지고, HCDR2는 서열번호: 34의 서열로 이루어지며, HCDR1은 서열번호: 46의 서열로 이루어지고, LCDR3는 서열번호: 22의 서열로 이루어지고, LCDR2는 서열: A9의 서열로 이루어지며, LCDR1은 서열번호: 58의 서열로 이루어진다.

[0264] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 11의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 35의 서열을 포함하는 CDR2, 서열번호: 47의 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열번호: 23의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A10의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 59의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, HCDR3는 서열번호: 11의 서열로 이루어지고, HCDR2는 서열번호: 35의 서열로 이루어지며, HCDR1은 서열번호: 47의 서열로 이루어지고, LCDR3는 서열번호: 23의 서열로 이루어지고, LCDR2는 서열: A10의 서열로 이루어지며, LCDR1은 서열번호: 59의 서열로 이루어진다.

[0265] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 12의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 36의 서열을 포함하는 CDR2, 서열번호: 48의 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열번호: 24의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A11의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 60의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, HCDR3는 서열번호: 12의 서열로 이루어지고, HCDR2는 서열번호: 36의 서열로 이루어지며, HCDR1은 서열번호: 48의 서열로 이루어지고, LCDR3는 서열번호: 24의 서열로 이루어지고, LCDR2는 서열: A11의 서열로 이루어지며, LCDR1은 서열번호: 60의 서열로 이루어진다.

[0266] 일 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 13의 서열을 포함하는 CDR3, 서열번호: 37의 서열을 포함하는 CDR2, 서열번호: 49의 서열을 포함하는 CDR1을 포함하고, 상기 VL 영역은 서열번호: 25의 서열을 포함하는 CDR3, 서열: A12의 서열을 포함하는 CDR2, 및 서열번호: 61의 서열을 포함하는 CDR1을 포함한다. 일 실시예에서, HCDR3는 서열번호: 13의 서열로 이루어지고, HCDR2는 서열번호: 37의 서열로 이루어지며, HCDR1은 서열번호: 49의 서열로 이루어지고, LCDR3는 서열번호: 25의 서열로 이루어지고, LCDR2는 서열: A12의 서열로 이루어지며, LCDR1은 서열번호: 61의 서열로 이루어진다.

[0267] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 하나 이상의 CDR 서열을 포함한다. 추가의 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1252_P01_C08의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P01_E07의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P02_G04의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P02_B07의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1251_P02_C05의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1139_P01_E04의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P02_F07의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P01_G06의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1245_P01_G09의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1138_P01_B09의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표 2에 기재된 클론 1251_P02_G10의 하나 이상의 (예를 들어, 모든) CDR 서열을 포함한다.

[0268] 적절하게는 전술한 VH 및 VL 영역은 각각 4개의 프레임워크 영역(FR1-FR4)을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-85 중 어느 하나의 프레임워크 영역과 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4)을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-85 중 어느 하나의 프레임워크 영역과 90% 이상, 예를 들어 95%, 97% 또는 99% 이상의 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하는 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4)을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-85 중 어느 하나의 서열을 포함하는 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4)을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은

서열번호: 62-85 중 어느 하나의 서열로 이루어진 프레임워크 영역(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4)을 포함한다.

[0269] 본 명세서에 기재된 상기 항체는 그의 전체 경 사슬 및/또는 중 사슬 가변 서열에 의해 정의될 수 있다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다.

[0270] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-73 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-73 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 62, 63, 64, 65 또는 66, 예를 들어 62, 63, 64 또는 65, 특히 62, 63 또는 65 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 62, 63, 64, 65 또는 66, 예를 들어 62, 63, 64 또는 65, 특히 62, 63 또는 65 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다. 추가 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 68, 69, 70, 71, 72 또는 73, 예를 들어 68, 69, 70 또는 71 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VH 영역은 서열번호: 68, 69, 70, 71, 72 또는 73, 예를 들어 68, 69, 70 또는 71 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다.

[0271] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 74-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 74-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 74, 75, 76, 77 또는 78, 예를 들어 74, 75, 76 또는 77, 특히 74, 75 또는 76 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 74, 75, 76, 77 또는 78, 예를 들어 74, 75, 76 또는 77, 특히 74, 75 또는 76 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다. 추가 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 80, 81, 82, 83, 84 또는 85, 예를 들어 80, 81, 82 또는 83 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 VL 영역은 서열번호: 80, 81, 82, 83, 84 또는 85, 예를 들어 80, 81, 82 또는 83 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다.

[0272] 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-73 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 74-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62-73 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 74-85 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다.

[0273] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 63(1252_P01_C08)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62(1245_P01_E07)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 64(1245_P02_G04)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 68(1139_P01_E04)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 69(1245_P02_F07)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 70(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 71(1245_P01_G09)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역을 포함한다.

[0274] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 63(1252_P01_C08)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62(1245_P01_E07)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 64(1245_P02_G04)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 68(1139_P01_E04)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 69(1245_P02_F07)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 70(1245_P01_G06)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 71(1245_P01_G09)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역을 포함한다.

한다.

- [0275] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 75(1252_P01_C08)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 74(1245_P01_E07)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 76(1245_P02_G04)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 80(1139_P01_E04)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 81(1245_P02_F07)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 82(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 83(1245_P01_G09)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0276] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 75(1252_P01_C08)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 74(1245_P01_E07)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 76(1245_P02_G04)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 80(1139_P01_E04)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 81(1245_P02_F07)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 82(1245_P01_G06)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 83(1245_P01_G09)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다.
- [0277] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 63(1252_P01_C08)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 75(1252_P01_C08)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62(1245_P01_E07)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 74(1245_P01_E07)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 64(1245_P02_G04)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 76(1245_P02_G04)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 68(1139_P01_E04)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 80(1139_P01_E04)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 69(1245_P02_F07)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 81(1245_P02_F07)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 70(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 82(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 71(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함하는 VH 영역 및 서열번호: 83(1245_P01_G09)의 아미노산 서열을 포함하는 VL 영역을 포함한다.
- [0278] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 63(1252_P01_C08)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 75(1252_P01_C08)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 62(1245_P01_E07)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 74(1245_P01_E07)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 64(1245_P02_G04)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 76(1245_P02_G04)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 68(1139_P01_E04)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 80(1139_P01_E04)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 69(1245_P02_F07)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 81(1245_P02_F07)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 70(1245_P01_G06)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 82(1245_P01_G06)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 71(1245_P01_G09)의 아미노산 서열로 이루어진 VH 영역 및 서열번호: 83(1245_P01_G09)의 아미노산 서열로 이루어진 VL 영역을 포함한다.
- [0279] VH 및 VL 영역을 모두 포함하는 단편의 경우, 이들은 공유 결합(예를 들어, 다이설파이드 결합 또는 링커를 통해) 또는 비공유 결합될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체 단편은 scFv, 즉 링커에 의해 연결된 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는 단편을 포함할 수 있다. 일 실시예에서, 상기 VH 및 VL 영역은 (예를 들어, 합성) 폴리펩

타이드 링커에 의해 연결된다. 상기 폴리펩타이드 링커는 $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$ 링커를 포함할 수 있으며, 여기서 n 은 1 내지 8, 예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 7이다. 상기 폴리펩타이드 링커는 $[(\text{Gly}_4\text{Ser})_n(\text{Gly}_3\text{AlaSer})_m]_p$ 링커를 포함할 수 있으며, 여기서 $n = 1$ 내지 8, 예를 들어 2, 3, 4, 5 또는 7이고, $m = 1$ 내지 8, 예를 들어 0, 1, 2 또는 3이며, $p = 1$ 내지 8, 예를 들어 1, 2 또는 3이다. 추가 실시예에서, 상기 링커는 서열번호: 98을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 링커는 서열 98로 이루어진다.

[0280] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86-97 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86-97 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 87(1252_P01_C08)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86(1245_P01_E07)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 88(1245_P02_G04)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 92(1139_P01_E04)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 93(1245_P02_F07)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 94(1245_P01_G06)의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 95(1245_P01_G09)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0281] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86-97 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다. 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86-97 중 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 87(1252_P01_C08)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 86(1245_P01_E07)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 88(1245_P02_G04)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 92(1139_P01_E04)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 93(1245_P02_F07)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 94(1245_P01_G06)의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 95(1245_P01_G09)의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0282] 당업자에게는 scFv 구조물이 번역, 정제 및 검출을 돕기 위해 N-말단 및 C-말단의 변형을 포함하도록 설계 및 제조될 수 있음은 당연하다. 예를 들어, scFv 서열의 N-말단에서, 부가 메티오닌 및/또는 알라닌 아미노산 잔기가 기준 VH 서열(예를 들어, QVQ 또는 EVQ로 시작하는)의 앞에 포함될 수 있다. C-말단(즉, IMGT 정의에 따라 끝나는 기준 VL 도메인 서열의 C-말단)에서, (i) 불변 도메인의 부분 서열 및/또는 (ii) 정제 및 검출을 돕는 His-태그 및 Flag-태그와 같은 태그를 포함하는 부가 합성 서열과 같은 부가 서열이 포함될 수 있다. 일 실시예에서, 서열번호: 124는 서열번호: 86, 88-90, 92-97 중 어느 하나의 C-말단에 부가된다. 일 실시예에서, 서열번호: 125는 서열번호: 86, 88-90, 92-97 중 어느 하나의 C-말단에 부가된다. 일 실시예에서, 서열번호: 126은 서열번호: 87 또는 91 중 어느 하나의 C-말단에 부가된다. 일 실시예에서, 서열번호: 127은 서열번호: 87 또는 91 중 어느 하나의 C-말단에 부가된다. 상기 scFv N- 또는 C-말단 서열은 선택 사항이며, 다른 scFv 설계, 번역, 정제 또는 검출 전략이 채택되는 경우 제거, 수정 또는 대체될 수 있음은 당연하다.

[0283] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 상기 항체는 임의의 형태일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 상기 항체는 IgG1 형태이다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-122 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-122 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-116, 예를 들어 서열번호: 111-113 및 116의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 117-122의 아미노산 서열, 예를 들어 서열번호: 117-120의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111, 112, 116-120, 예를 들어 서열번호: 111, 112 또는 116, 또는 서열번호: 117-120의 아미노산 서열을 포함한다.

[0284] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-122 중 어느 하나와 80% 이상의 서열 상동성을 갖는 아미노산 서열로 이루어진다. 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-122 중 어느 하나의 아미노산 서열로 이루어진다. 또 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111-116, 예를 들어 111-113 및 116의 아미노산 서열로 이루어진다. 다른 추가 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 117-122, 예를 들어 서열번호: 117-120의 아미노산 서열로 이루어진다, 또 다른 추가 실시예에서,

상기 항체 또는 이의 단편은 서열번호: 111, 112, 116-120, 예를 들어 서열번호: 111, 112 또는 116, 또는 서열번호: 117-120의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0285] 일 실시예에서, 상기 항체는 본 명세서에 정의된 항체 또는 이의 단편과 동일하거나 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하거나 상기 항체 또는 이의 단편과 경쟁한다. 상기 항체가 참조 항-Vδ1 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 또는 결합에 대해 경쟁하는지 여부는 당업계에 공지된 통상적인 방법을 사용하여 용이하게 결정할 수 있다. 예를 들어, 시험 항체가 참조 항-Vδ1 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 결정하기 위하여, 참조 항체가 포화 조건 하에 Vδ1 단백질 또는 펩티드에 결합되도록 한다. 이후, Vδ1 사슬에 결합하는 시험 항체의 능력이 평가된다. 만일 참조 항-Vδ1 항체가 포화 결합된 후 시험 항체가 Vδ1에 결합할 수 있다면, 시험 항체는 참조 항-Vδ1 항체와 상이한 에피토프에 결합한다고 결론지을 수 있다. 반면에, 참조 항-Vδ1 항체가 포화 결합된 후 시험 항체가 Vδ1 사슬에 결합할 수 없다면, 시험 항체는 참조 항-Vδ1 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 것이다.

[0286] 본 발명은 또한 Vδ1에 대한 결합에 대해 본 명세서에 정의된 상기 항체 또는 이의 단편, 또는 본 명세서에 기재된 임의의 예시적인 항체의 CDR 서열을 갖는 항체와 경쟁하는 항-Vδ1 항체를 포함한다. 예를 들어, 어떤 단백질, 항체 및 기타 길항제가 상기 항체와 Vδ1 사슬에 결합하기 위해 경쟁하고/거나 에피토프를 공유하는지 결정하기 위해 항체와의 경쟁 분석을 수행할 수 있다. 상기 분석은 당업자에게 이미 공지되어 있다; 이들은 단백질, 예를 들어 Vδ1의 제한된 수의 결합 부위에 대한 길항제 또는 리간드 간의 경쟁을 평가한다. 상기 항체(또는 이의 단편)는 경쟁 전 또는 후에 고정되거나 불용화되어, 예를 들어 경사분리(항체가 사전에 불용화 된 경우) 또는 원심분리(항체가 경쟁 반응 후 침전된 경우)에 의해 Vδ1 사슬에 결합된 시료는 결합되지 않은 시료로부터 분리된다. 또한, 경쟁적 결합은 기능이 단백질에 대한 항체의 결합 또는 결합의 결여에 의해 변경되는지 여부, 예를 들어 항체 분자가, 예를 들어 표지의, 효소 활성을 억제하거나 강화하는지 여부에 의해 결정될 수 있다. ELISA 및 기타 기능적 분석이 당업계에 공지되고 본원에 기술된 바와 같이 사용될 수 있다.

[0287] 각각의 항체가 표적 항원에 대한 다른 항체의 결합을 경쟁적으로 저해(차단)한다면, 두 개의 항체는 동일하거나 중첩되는 에피토프에 결합한다. 즉, 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 과량인 하나의 항체는 경쟁 결합 분석에서 측정할 때 다른 항체의 결합을 적어도 50%, 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어 99%까지 억제한다. 또는 본질적으로 하나의 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 표적 항원에서의 모든 아미노산의 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소 또는 제거하는 경우, 두 개의 항체는 동일한 에피토프를 갖는다.

[0288] 관측된 시험 항체의 결합 부족이 실제로 참조 항체와 동일한 에피토프에 대한 결합 때문인지 또는 입체적 차단(또는 다른 현상)이 관측된 결합의 부족에 대한 원인인지 확인하기 위하여 추가의 통상적인 실험작업(예를 들어, 펩타이드 돌연변이 및 결합 분석)이 수행될 수 있다. 이러한 종류의 실험은 ELISA, RIA, 표면 플라즈몬 공명, 유세포 분석 또는 당업계에서 이용 가능한 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체-결합 분석을 사용하여 수행될 수 있다.

[0289] 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 Asn 297(EU 넘버링 방식)에 연결된 당에 대한 변형을 통해 변형된 작동체 기능을 포함한다. 추가의 상기 변형에서, Asn 297은 푸코실화되지 않거나 감소된 푸코실화를 나타낸다(즉, 디푸코실화된 항체 또는 푸코실화되지 않은 항체). 푸코실화(fucosylation)는 분자에 푸코오스 당의 첨가, 예를 들어 N-글리칸, O-글리칸 및 당지질에 대한 푸코오스의 부착을 포함한다. 따라서, 탈푸코실화된 항체에서 푸코스는 불변영역의 탄수화물 사슬에 부착되어 있지 않다. 상기 항체는 항체의 푸코실화를 방지하거나 억제하도록 변형될 수 있다. 전형적으로, 글리코실화 변형은 표적화된 조작을 통해 또는 표적화된 또는 우연한 숙주 또는 클론 선택을 통해 대체된 글리코실화 처리 능력을 함유하는 숙주 세포에서 상기 항체 또는 이의 단편을 발현시키는 것을 포함한다. 이들 및 다른 작동체 변형은 예를 들어 Xinhua Wang et al. (2018) Protein & Cell 9: 63-73과 Pereira et al. (2018) mAbs 10(5): 693-711 및 여기에 포함된 최근 리뷰에서 추가로 논의되어 있다.

[0290] 항체 서열 변형

[0291] 상기 항체 및 이의 단편은 공지된 방법을 사용하여 변형될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체 분자에 대한 서열 변형은 당업자에 의해 용이하게 통합될 수 있다. 하기 예는 비제한적이다.

[0292] 항체 발견 및 파지 라이브러리로부터의 서열의 취득 동안, 원하는 항체 가변 도메인은 서브-클로닝에 의해 전장 IgG로 재-형태화될 수 있다. 상기 과정을 가속화하기 위해 가변 도메인은 종종 제한 효소를 사용하여 전달된다. 상기 고유한 제한 부위는 추가/대체 아미노산을 도입할 수 있고 기준 서열에서 벗어날 수 있다(상기

기준 서열은 예를 들어 국제 ImmunoGeneTics[IMGT] 정보 시스템에서 찾을 수 있음, <http://www.imgt.org> 참조). 이들은 카파(Kappa) 또는 람다(Lambda) 경 사슬 서열 변형으로 도입될 수 있다.

[0293] 카파 경 사슬 변형

[0294] 가변 카파 경 사슬 가변 서열은 전장 IgG로 재-형태화(re-formatting)하는 동안 제한 부위(예를 들어, Nhe1-Not1)를 사용하여 클로닝될 수 있다. 보다 구체적으로, 카파 경 사슬 N-말단에서 클로닝을 지원하기 위해 추가의 Ala-Ser 서열이 도입되었다. 바람직하게는, 상기 추가의 AS 서열은 이후 기준 N-말단 서열을 생성하도록 추가 개발 동안 제거된다. 따라서, 일 실시예에서, 본 명세서에 기재된 카파 경 사슬 함유 항체는 이의 N-말단에 AS 서열을 함유하지 않으며, 즉 서열번호: 74, 76-78 및 80-85는 초기 AS 서열을 포함하지 않는다. 추가 실시예에서, 서열번호: 74 및 76-78은 초기 AS 서열을 포함하지 않는다. 상기 실시예는 또한 상기 서열을 함유하는 본 명세서에 포함된 다른 서열(예를 들어, 서열 번호: 86, 88-90 및 92-97)에도 적용되는 것은 당연하다.

[0295] 클로닝 지원하기 위해 추가적인 아미노산 변경이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기술된 항체에 대해, 카파 경 사슬 가변 도메인/불변 도메인 경계에서 클로닝을 지원하기 위해 발린에서 알라닌으로의 변경이 도입되었다. 그 결과 카파 불변 도메인 변형이 발생하였다. 구체적으로 RTAAAPS(NotI 제한 사이트에서)로 시작하는 불변 도메인을 초래한다. 바람직하게는, 상기 서열은 RTVAAPS로 시작하는 기준 카파 경 사슬 불변영역을 생성하도록 추가 개발 동안 변형될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서 본 명세서에 기재된 카파 경 사슬을 함유하는 항체는 서열 RTV로 시작하는 불변 도메인을 함유한다. 따라서, 일 실시예에서, 서열번호: 111-114 및 117-122에서의 서열 RTAAAPS는 서열 RTVAAPS로 대체된다.

[0296] 람다 경 사슬 변형

[0297] 상기 카파 예와 유사하게, 람다 경 사슬 가변 도메인은 전장 IgG로 재-형태화하는 동안 제한 부위(예를 들어, Nhe1-Not1)를 도입하여 클로닝될 수도 있다. 보다 구체적으로, 람다 경 사슬 N-말단에서 클로닝을 지원하기 위해 추가의 Ala-Ser 서열이 도입될 수 있다. 바람직하게는, 상기 추가의 AS 서열은 이후 기준 N-말단 서열을 생성하도록 추가 개발 동안 제거된다. 따라서, 일 실시예에서, 본 명세서에 기재된 람다 경 사슬 함유 항체는 이의 N-말단에 AS 서열을 함유하지 않으며, 즉 서열번호: 75 및 79는 초기 AS 서열을 포함하지 않는다. 상기 실시예는 또한 상기 서열을 함유하는 본 명세서에 포함된 다른 서열(예를 들어, 서열 번호: 87, 91, 115 및 116)에도 적용되는 것은 당연하다. 일 실시예에서, 서열번호: 75는 초기 6개 잔기를 함유하지 않으며, 즉 ASSYEL 서열이 제거된다.

[0298] 또 다른 예로서, 본 명세서에 기술된 항체에 대해, 람다 경 사슬 가변 도메인/불변 도메인 경계에서 클로닝을 지원하기 위해 라이신에서 알라닌으로의 서열 변경이 도입되었다. 그 결과 람다 불변 도메인 변형이 발생하였다. 구체적으로 GQPAAAPS(NotI 제한 사이트에서)로 시작하는 불변 도메인을 초래한다. 바람직하게는, 상기 서열은 GQPKAAPS로 시작하는 기준 람다 경 사슬 불변 영역을 생성하도록 추가 개발 동안 변형될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 본 명세서에 기재된 람다 경 사슬을 함유하는 항체는 서열 GQPK로 시작하는 불변 도메인을 함유한다. 따라서, 일 실시예에서, 서열번호: 115 또는 116에서의 서열 GQPAAAPS는 서열 GQPKAAPS로 대체된다.

[0299] 중 사슬 변형

[0300] 일반적으로 인간 가변 중 사슬 서열은 염기성 글루타민(Q) 또는 산성 글루탐레이트(E)로 시작한다. 그러나 상기 두 서열 모두는 산성 아미노산 잔기인 피로-글루탐레이트(pE, pyro-glutamate)로 전환되는 것으로 알려져 있다. Q에서 pE로의 전환은 항체에 전하 변화를 초래하는 반면, E에서 pE로의 전환은 항체의 전하를 변화시키지 않는다. 따라서 시간 경과에 따른 가변 전하-변화를 피하기 위한 한 가지 선택안은 우선적으로 Q로 시작하는 중 사슬 서열을 E로 변형하는 것이다. 따라서 일 실시예에서, 본 명세서에 기재된 항체의 중 사슬은 N-말단에서 Q에서 E로의 변형을 함유한다. 특히, 서열번호: 62, 64 및/또는 67-71의 초기 잔기는 Q에서 E로 변형될 수 있다. 상기 실시예는 또한 상기 서열을 함유하는 본 명세서에 포함된 다른 서열(예를 들어, 서열번호: 86, 88, 91-97 및 111, 112, 115, 117-120)에도 적용되는 것은 당연하다.

[0301] 추가로, IgG1 불변 도메인의 C-말단은 PGK로 끝난다. 그러나 말단 염기성 라이신(K)은 이후 종종 발현 동안 절단된다(예를 들어, CHO 세포에서). 이는 뒤 이은 C-말단 라이신 잔기의 다양한 손실을 통해 항체에 전하 변화를 초래한다. 따라서 한 가지 선택안은 우선적으로 라이신을 제거하여 PG로 끝나는 균일하고 일관된 중 사슬 C-말단 서열을 생성하는 것이다. 따라서, 일 실시예에서, 본 명세서에 기재된 항체의 중 사슬은 그의 C-말단으로부터 K가 제거된 말단을 갖는다. 특히, 본 발명의 항체는 말단 라이신 잔기가 제거된 서열번호: 111-122 중

어느 하나를 포함할 수 있다.

[0302] 선택적 동종이형 변형

[0303] 항체 발견 동안, 특정 인간 동종이형(allotype)이 사용될 수 있다. 선택적으로, 상기 항체는 개발 동안 다른 인간 동종이형으로 전환될 수 있다. 비제한적인 예로서, 카파 사슬에 대해 (동종이형 넘버링 사용하여) 3개의 Km 대립유전자를 정의하는 Km1, Km1,2 및 Km3으로 지칭되는 3개의 인간 동종이형이 있다: Km1은 발린 153(IMGTV45.1) 및 류신 191(IMGTL101)과 관련되어 있고; Km1,2는 알라닌 153(IMGTA45.1) 및 류신 191(IMGTL101)과 관련되어 있으며; Km3는 알라닌 153(IMGTA45.1) 및 발린 191(IMGTV101)과 관련되어 있다. 선택적으로, 따라서 표준 클로닝 접근법에 의해 하나의 동종이형에서 다른 동종이형으로 서열을 변형할 수 있다. 예를 들어, L191V(IMGTL101V) 변경은 Km1,2 동종이형을 Km3 동종이형으로 전환한다. 상기 동종이형에 대한 추가 참조는 본 명세서에 참조문헌으로 포함된 Jefferis and Lefranc (2009) MAbs 1(4):332-8을 참조한다.

[0304] 따라서 일 실시예에서 본 명세서에 기재된 항체는 동일한 유전자의 또 다른 인간 동종이형으로부터 유래된 아미노산 치환체를 함유한다. 추가 실시예에서, 상기 항체는 c-도메인을 km1,2에서 km3 동종이형으로 전환시키기 위한 카파 사슬에 대한 L191V(IMGTL101V) 치환을 함유한다.

[0305] 항체 결합

[0306] 상기 항체 또는 이의 단편은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 1.5×10^{-7} M(즉, 150 nM) 미만의 결합 친화도(KD)로 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬에 결합할 수 있다. 바람직한 실시예에서, KD는 1.5×10^{-7} M(즉, 150 nM) 미만이다. 추가 실시예에서, KD는 1.3×10^{-7} M(즉, 130 nM) 이하, 예를 들어 1.0×10^{-7} M(즉, 100 nM) 이하이다. 또 다른 실시예에서, KD는 5.0×10^{-8} M(즉, 50 nM) 미만, 예를 들어 4.0×10^{-8} M(즉, 40 nM) 미만, 3.0×10^{-8} M(즉, 30 nM) 이하, 또는 2.0×10^{-8} M(즉, 20 nM) 미만이다. 예를 들어, 일 양태에 따르면, 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 1.5×10^{-7} M(즉, 150 nM) 미만의 결합 친화도(KD)로 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬에 결합하는 인간 항-V δ 1 항체가 제공된다.

[0307] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정된 4.0×10^{-8} M(즉, 40 nM) 미만, 3.0×10^{-8} M 미만(즉, 30nM) 또는 2.0×10^{-8} M(즉, 20 nM) 미만의 결합 친화도(KD)로 $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬에 결합한다.

[0308] 일 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 단편의 결합 친화도는, 센서(예를 들어, 아민 고용량 칩 또는 등가물)의 표면에 상기 항체 또는 이의 단편을 직접 또는 간접적으로 코팅함으로써(예를 들어, 항-인간 IgG Fc로 포획하는 것에 의해) 입증되며, 여기서 상기 항체 또는 이의 단편에 의해 결합되는 표적(즉, $\gamma \delta$ TCR의 V δ 1 사슬)은 결합을 검출하기 위해 칩 위로 흐른다. 적절하게는 MASS-2 기기(Sierra SPR-32로도 지칭될 수 있음)는 25°C, 30 μ l/min 유속의 PBS + 0.02% Tween 20 버퍼에서 사용된다.

[0309] 항체 기능을 정의하는 데 사용될 수 있는 다른 분석법이 본 명세서에 설명된다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편은 $\gamma \delta$ TCR 결합에 의해, 예를 들어 항체 결합 시 $\gamma \delta$ TCR의 하향조절을 측정하는 것으로 평가될 수 있다. 상기 항체 또는 이의 단편(선택적으로 세포 표면에 제공됨)의 적용 후 $\gamma \delta$ TCR의 표면 발현이 예를 들어, 유세포 분석에 의해 측정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편은 또한 $\gamma \delta$ T 세포 탈과립을 측정하는 것에 의해 평가될 수 있다. 예를 들어, 세포 탈과립에 대한 마커인 CD107a의 발현은 $\gamma \delta$ T 세포에 상기 항체 또는 이의 단편(선택적으로 세포 표면에 제공됨)을 적용한 후, 예를 들어 유세포 분석에 의해 측정할 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편은 또한 (항체가 $\gamma \delta$ T 세포의 사멸 활성화에 영향을 미치는지 검정하기 위해) $\gamma \delta$ T 세포 사멸 활성을 측정함으로써 평가될 수 있다. 예를 들어, 표적 세포는 (선택적으로, 세포 표면에 존재하는) 상기 항체 또는 이의 단편의 존재 하에 $\gamma \delta$ T 세포와 함께 배양될 수 있다. 배양 후, 배양물은 살아있는 표적 세포와 죽은 표적 세포를 구별하기 위해 세포 생존성 염료로 염색될 수 있다. 이후 죽은 세포의 비율을 예를 들어, 유세포 분석에 의해 측정할 수 있다.

[0310] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 분석에 사용된 항체 또는 이의 단편은 표면, 예를 들어 Fc 수용체를 포함하는 세포와 같이 세포의 표면 상에 존재할 수 있다. 예를 들어, 상기 항체 또는 이의 단편은 TIB 202™세포(American Type Culture Collection(ATCC)에서 입수 가능)와 같은 THP-1 세포의 표면에 존재할 수 있다. 또는, 상기 항체 또는 이의 단편은 분석에 직접 사용될 수 있다.

- [0311] 상기 기능 분석에서 출력은 "EC50" 또는 "50%의 유효 농도"로 지칭되기도 하는 최대 농도의 절반을 계산하여 측정할 수 있다. 용어 "IC50"은 억제 농도를 지칭한다. EC50 및 IC50 모두는 유세포 분석법과 같이 당업계에 공지된 방법을 사용하여 측정할 수 있다. 의심의 여지를 피하기 위해, 본 출원에서 EC50 값은 IgG1 형식태화된 항체를 사용하여 제공된다. 상기 값은 다음과 같이 등가 값에 대한 항체 형식의 분자량을 기반으로 용이하게 변환될 수 있다.
- [0312] $(\mu\text{g/ml}) / (\text{kDa 단위의 MW}) = \mu\text{M}$
- [0313] 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ TCR의 하향조절에 대한 EC50은 0.50 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.40 $\mu\text{g/ml}$, 0.30 $\mu\text{g/ml}$, 0.20 $\mu\text{g/ml}$, 0.15 $\mu\text{g/ml}$, 0.10 $\mu\text{g/ml}$ 또는 0.05 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ TCR의 하향조절에 대한 EC50은 0.10 $\mu\text{g/ml}$ 미만이다. 특히, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ TCR의 하향조절에 대한 EC50은 0.06 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.05 $\mu\text{g/ml}$, 0.04 $\mu\text{g/ml}$ 또는 0.03 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 수 있다. 특히, 상기 EC50 값은 항체가 IgG1 형태로 측정될 때의 값이다. 예를 들어, EC50 $\gamma\delta$ TCR 하향조절 값은(예를 들어, 실시예 6의 분석에 기재된 바와 같이) 유세포 분석을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0314] 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 탈과립에 대한 EC50은 0.050 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.040 $\mu\text{g/ml}$, 0.030 $\mu\text{g/ml}$, 0.020 $\mu\text{g/ml}$, 0.015 $\mu\text{g/ml}$, 0.010 $\mu\text{g/ml}$ 미만 또는 0.008 $\mu\text{g/ml}$ 일 수 있다. 특히, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 탈과립에 대한 EC50은 0.005 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.002 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 탈과립에 대한 EC50은 0.007 $\mu\text{g/ml}$ 미만이다. 특히, 상기 EC50 값은 항체가 IgG1 형태로 측정될 때의 값이다. 예를 들어, $\gamma\delta$ T 세포 탈과립 EC50 값은 (예를 들어, 실시예 7의 분석에 기재된 바와 같이) 유세포 분석을 사용하여 CD107a 발현(즉, 세포 탈과립의 마커)을 검출함으로써 측정될 수 있다. 일 실시예에서, CD107a 발현은 항-인간 CD107a BV421(클론 H4A3)(BD Biosciences)과 같은 항-CD107a 항체를 사용하여 측정된다.
- [0315] 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 사멸에 대한 EC50은 0.50 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.40 $\mu\text{g/ml}$, 0.30 $\mu\text{g/ml}$, 0.20 $\mu\text{g/ml}$, 0.15 $\mu\text{g/ml}$, 0.10 $\mu\text{g/ml}$ 또는 0.07 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 수 있다. 바람직한 실시예에서, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 사멸에 대한 EC50은 0.10 $\mu\text{g/ml}$ 미만이다. 특히, 상기 항체(또는 단편)의 결합 시, $\gamma\delta$ T 세포 사멸에 대한 EC50은 0.060 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 예를 들어 0.055 $\mu\text{g/ml}$ 미만, 특히 0.020 $\mu\text{g/ml}$ 또는 0.010 $\mu\text{g/ml}$ 미만일 수 있다. 특히, 상기 EC50 값은 항체가 IgG1 형태로 측정될 때의 값이다. 예를 들어, EC50 $\gamma\delta$ T 세포 사멸 값은 (예를 들어, 실시예 8의 분석에 기재된 바와 같이) 항체, $\gamma\delta$ T 세포 및 표적 세포의 배양 후 유세포 분석을 사용하여 죽은 세포의 비율을 검출함으로써(즉, 세포 생존성 염료를 사용하여) 측정할 수 있다. 일 실시예에서, 표적 세포의 사멸은 세포 생존성 염료인 Viability Dye eFluor™ 520(ThermoFisher)을 사용하여 측정된다.
- [0316] 상기 양태에 기재된 분석에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 세포, 예를 들어 TIB-202™(ATCC)와 같은 THP-1 세포의 표면 상에 존재할 수 있다. THP-1 세포는 선택적으로 CellTracker™ Orange CMTMR(ThermoFisher)과 같은 염료로 표지된다.
- [0317] 항체(또는 단편)는 예를 들어 Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2012) 4th Edition Cold Spring Harbor Laboratory Press에 개시된 기술을 사용하여 수득 및 조작될 수 있다.
- [0318] 단일클론 항체는 하이브리도마 기술을 사용하여 조직 배양에서 성장하는 능력 및 항체 사슬 합성의 부재로 인해 선택된 골수종(B 세포 암) 세포와 특정 항체를 생산하는 B 세포를 융합함으로써 생산할 수 있다.
- [0319] 결정된 항원에 대한 단일클론 항체는 예를 들어;
- [0320] a) 하이브리도마를 형성하기 위해 결정된 항원, 불멸 세포 및 바람직하게는 골수종 세포로 미리 면역화된 동물의 말초 혈액으로부터 얻은 림프구를 불멸화하고,
- [0321] b) 형성된 불멸화 세포(하이브리도마)를 배양하고 원하는 특이성을 갖는 항체를 생산하는 세포를 회수하는 것에 의해 수득될 수 있다.
- [0322] 또는 하이브리도마 세포를 사용할 필요가 없다. 본 명세서에 기재된 표적 항원에 결합할 수 있는 항체는 적절한 항체 라이브러리로부터 당업계에 공지된 통상의 방법, 예를 들어, 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 리보솜 디스플레이 또는 포유동물 디스플레이 기술을 사용하여 단리될 수 있다. 따라서, 단일클론 항체는 예를 들어 다음 단계를 포함하는 방법에 의해 수득될 수 있다:

- [0323] a) 림프구, 특히 (결정된 항원으로 적절하게 미리 면역화된) 동물의 말초 혈액 림프구로부터 얻은 DNA 또는 cDNA 서열을 벡터, 특히 파지 및 보다 상세하게는 사상 박테리오파지로 클로닝하는 단계,
- [0324] b) 항체의 생산을 허용하는 조건에서 상기 벡터로 원핵 세포를 형질전환시키는 단계,
- [0325] c) 항체를 항원-친화성 선택에 적용하여 항체를 선택하는 단계,
- [0326] d) 원하는 특이성을 갖는 항체를 회수하는 단계.
- [0327] **약학 조성물**
- [0328] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 방법에 의해 수득된 V δ 1 T 세포 집단을 포함하는 조성물이 제공된다. 일 실시예에서 V δ 1 T 세포 집단은 증식된 V δ 1 T 세포 집단이다. 이러한 실시예에서, 상기 조성물은 세포를 포함할 수 있으며, 선택적으로 다른 부형제와 조합될 수 있다. 또한 하나 이상의 추가 활성제(예를 들어, 본 명세서에 언급된 질병을 치료하기에 적절한 활성제)를 포함하는 조성물이 포함된다.
- [0329] 약학 조성물은 하나 이상의 약학적 또는 생리학적으로 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제와 조합된 본 명세서에 기재된 γ δ T 세포를 포함할 수 있다. 상기 조성물은 중성 완충 식염수, 인산 완충 식염수 등과 같은 완충액; 포도당, 만노스, 수크로스 또는 텍스트란과 같은 탄수화물, 만니톨; 단백질; 폴리펩티드 또는 글리신과 같은 아미노산; 항산화제; EDTA 또는 글루타치온과 같은 킬레이팅제; 보조제(adjuvants, 예를 들어, 수산화 알루미늄); 및 방부제를 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물에 사용될 수 있는 동결보존 용액은 예를 들어 DMSO를 포함한다. 조성물은 예를 들어 정맥 내 투여를 위해 제형화될 수 있다.
- [0330] 일 실시예에서, 제약 조성물은 예를 들어, 내독소 또는 마이코플라스마와 같은 검출가능한 수준의 오염물이 실질적으로 없다.
- [0331] 바람직한 투여 방식은 비경구(예를 들어, 정맥내, 피하, 복강내, 근육내, 척추강내)이다. 바람직한 실시예에서, 상기 조성물은 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다. 또 다른 바람직한 실시예에서, 상기 조성물은 근육내 또는 피하 주사에 의해 투여된다.
- [0332] 본 명세서에 기재된 질병의 치료를 위한 치료 방법에서 본 발명의 약학 조성물을 상기 질병의 치료에 일반적으로 사용되는 다른 확립된 요법에 대한 보조로서 또는 이와 함께 사용하는 것은 본 발명의 범주 내에 있다.
- [0333] 본 발명의 추가 양태에서, 세포 집단, 조성물 또는 제약 조성물은 하나 이상의 활성제와 순차적으로, 동시에 또는 별도로 투여된다.
- [0334] **세포 집단을 이용한 치료 방법**
- [0335] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 약제로 사용하기 위해 본 명세서에 정의된 방법에 의해 수득된 세포 집단이 제공된다. 본 발명의 추가 양태에 따르면, 약제로 사용하기 위해 본 명세서에 정의된 증식된 세포 집단이 제공된다. 본 명세서에서 약제로서 또는 요법에서 "사용하기 위한" 세포 집단이라 함은 대상 세포 집단을 투여하는 것으로 제한된다. 상기 용도는 상기 항체 또는 이의 단편을 환자에게 직접 투여하는 것을 포함하지 않는다. 여기서 상기 항체는 치료제로 사용된다.
- [0336] 일 실시예에서, 세포 집단은 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환의 치료에 사용하기 위한 것이다. 추가 실시예에서, 세포 집단은 암 치료에 사용하기 위한 것이다.
- [0337] 일 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단은 50% 초과 V δ 1 T 세포, 예를 들어 60% 초과, 70% 초과, 80% 초과, 90% 초과, 95% 초과 또는 99% 초과 V δ 1 T 세포를 포함한다. 추가 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단은 V δ 1 T 세포로 이루어진다.
- [0338] 일 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단은 10% 미만의 α β T 세포, 예를 들어 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만 또는 3% 미만의 α β T 세포를 포함한다. 일 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단은 10% 미만의 V δ 2 T 세포, 예를 들어 8% 미만, 7% 미만, 6% 미만, 5% 미만, 4% 미만 또는 3% 미만의 V δ 2 T 세포를 포함한다. 일 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단은 50% 미만의 NK 세포, 예를 들어 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 10% 미만 또는 5% 미만의 NK 세포를 포함한다. 일 실시예에서, 약제로 사용하기 위한 세포 집단에 존재하는 세포의 50% 미만이 CD56을 발현하며, 예를 들어 40% 미만, 30% 미만, 20% 미만, 10% 미만 또는 5% 미만이 CD56을 발현한다.
- [0339] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 약제로 사용하기 위한 본 명세서에 정의된 세포 집단을 포함하는 제약 조성물이

제공된다. 일 실시예에서, 세포 집단을 포함하는 제약 조성물은 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환의 치료에 사용하기 위한 것이다. 추가 실시예에서, 세포 집단을 포함하는 제약 조성물은 암 치료에 사용하기 위한 것이다.

[0340] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 세포 집단의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서 면역 반응을 조절하는 방법이 제공된다.

[0341] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 본 명세서에 정의된 세포 집단의 치료적 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 이를 필요로 하는 대상에서 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환을 치료하는 방법이 제공된다. 또는, 세포 집단을 포함하는 약학 조성물의 치료학적 유효량이 투여된다.

[0342] 본 발명의 추가 양태에 따르면, 예를 들어 암, 감염성 질환 또는 염증성 질환의 치료에서 약제의 제조를 위한 본 명세서에 정의된 세포 집단의 용도가 제공된다.

[0343] 입양 T 세포 요법

[0344] 본 발명의 증식 방법에 의해 수득된 감마 델타 T 세포는 예를 들어 입양 T 세포 요법을 위한 약제로 사용될 수 있다. 이는 $\gamma \delta$ T 세포를 환자에게 전달하는 것을 포함한다. 요법은 $\gamma \delta$ T 자가유래(autologous), 즉 세포가 수득된 동일 환자에게 다시 전달하는 것일 수 있으며, 또는 동종이계(allogenic), 즉 한 사람으로부터 수득한 $\gamma \delta$ T 세포를 다른 환자에게 전달하는 것일 수도 있다. 동종이계 전달을 포함하는 경우, $\gamma \delta$ T 세포에는 $\alpha \beta$ T 세포가 실질적으로 없을 수 있다. 예를 들어, $\alpha \beta$ T 세포는, 예를 들어 증식 후, 당업계에 공지된 임의의 적절한 수단을 사용하여 (예를 들어, 예를 들어 자기 비드를 사용한 음성 선택에 의해) $\gamma \delta$ T 세포 집단으로부터 고갈될 수 있다. 치료 방법은 공여자 개체로부터 수득된 시료(예를 들어, 비-조혈조직 시료)를 제공하고; 본 명세서에 기재된 바와 같이 시료로부터 수득된 $\gamma \delta$ T 세포를 배양하고, 예를 들어 증식된 집단을 생성하며; $\gamma \delta$ T 세포 집단을 수용자 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0345] 치료될 환자 또는 대상은 바람직하게는 인간 암 환자(예를 들어, 고형 종양에 대해 치료될 인간 암 환자) 또는 바이러스 감염 환자(예를 들어, CMV-감염 또는 HIV 감염 환자)이다. 일부 예에서, 상기 환자는 고형 종양을 갖고 있으며/있거나 고형 종양을 치료 중이다. 그들은 평상시 일반적으로 비-조혈조직에 상재하기 때문에 조직-상재 V δ 1 T는 또한 전신적인 혈액-상재 대용물보다 종양 덩어리로 향하여 그 안에 머물 가능성이 더 높으며, 이러한 세포의 입양 전이는 고형 종양 및 잠재적으로 다른 비-조혈조직-관련 면역병리를 표적화하는 것이 더 효과적일 가능성이 있다.

[0346] $\gamma \delta$ T 세포는 비-MHC 제한성이므로, 외래물질로서 전이되는 숙주를 인식하지 못하며, 이는 이식편대숙질환을 일으킬 가능성이 적음을 의미한다. 이는 이들이 "기성품(off the shelf)"으로 사용될 수 있고, 예를 들어 동종이계 입양 T 세포 치료를 위해, 모든 수용자에게 전달될 수 있음을 의미한다.

[0347] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 수득된 $\gamma \delta$ T 세포는 NKG2D를 발현하고 악성 종양과 밀접하게 연관된 NKG2D 리간드(예를 들어, MICA)에 반응한다. 그들은 또한 임의의 활성화 부재 하에 세포독성 프로파일을 발현하므로, 종양 세포를 사멸시키는 데 효과적일 가능성이 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같이 수득된 $\gamma \delta$ T 세포는 IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, CCL4, IL-13, 그라눌리신(Granulysin), 그랜자임(Granzyme) A와 B, 및 퍼포린(Perforin) 중 하나 이상, 바람직하게는 모두를 발현할 수 있다. IL-17A는 발현되지 않을 수 있다.

[0348] 일부 실시예에서, 종양이 있는 개체의 치료 방법은; 공여자 개체로부터 수득된 비-조혈조직 시료를 제공하고, 상기 기재된 바와 같이 시료로부터 $\gamma \delta$ T 세포를 배양하여 증식된 집단을 생성하며; 증식된 $\gamma \delta$ T 세포 집단을 종양이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0349] 일부 실시예에서, 종양이 있는 개체의 치료 방법은 공여자 개체로부터 수득된 상기 종양 시료를 제공하고, 상기 기재된 바와 같이 시료로부터 수득된 $\gamma \delta$ T 세포를 배양하고, $\gamma \delta$ T 세포 집단을 종양이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다. 추가 실시예에서, 비-조혈 조직에 종양이 있는 개체를 치료하는 방법은 공여자 개체로부터 수득된 상기 비-조혈 조직 시료를 제공하고, 상기 기재된 바와 같이 시료로부터 수득된 $\gamma \delta$ T 세포를 배양하고, $\gamma \delta$ T 세포 집단을 종양이 있는 개체에게 투여하는 것을 포함할 수 있다.

[0350] 일부 예에서, 상기 기재된 임의의 방법에 의해 수득된 $\gamma \delta$ T 세포의 치료적 유효량은 대상에게 (예를 들어, 암 치료, 예를 들어 고형 종양 치료를 위해) 치료적 유효량으로 투여될 수 있다. 일부 경우에, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 치료적 유효량은 용량 당 10×10^{12} 세포 미만(예를

들어, 용량 당 9×10^{12} 세포 미만, 용량 당 8×10^{12} 세포 미만, 용량 당 7×10^{12} 세포 미만, 용량 당 6×10^{12} 세포 미만, 용량 당 5×10^{12} 세포 미만, 용량 당 4×10^{12} 세포 미만, 용량 당 3×10^{12} 세포 미만, 용량 당 2×10^{12} 세포 미만, 용량 당 1×10^{12} 세포 미만, 용량 당 9×10^{11} 세포 미만, 용량 당 8×10^{11} 미만 세포, 용량 당 7×10^{11} 세포 미만, 용량 당 6×10^{11} 세포 미만, 용량 당 5×10^{11} 세포 미만, 용량 당 4×10^{11} 세포 미만, 용량 당 3×10^{11} 세포 미만, 용량 당 2×10^{11} 세포 미만, 용량 당 1×10^{11} 세포 미만, 용량 당 9×10^{10} 세포 미만, 용량 당 7.5×10^{10} 세포 미만, 용량 당 5×10^{10} 세포 미만, 용량 당 2.5×10^{10} 세포 미만, 용량 당 세포 1×10^{10} 개, 용량 당 7.5×10^9 세포 미만, 용량 당 5×10^9 세포 미만, 용량 당 2.5×10^9 세포 미만, 용량 당 1×10^9 세포 미만, 용량 당 7.5×10^8 세포 미만, 용량 당 5×10^8 세포 미만, 용량 당 2.5×10^8 세포 미만, 용량 당 1×10^8 세포 미만, 용량 당 7.5×10^7 세포 미만, 용량 당 5×10^7 세포 미만, 용량 당 2.5×10^7 세포, 용량 당 1×10^7 세포 미만, 용량 당 7.5×10^6 세포 미만, 용량 당 5×10^6 세포 미만, 용량 당 2.5×10^6 세포 미만, 용량 당 1×10^6 세포, 용량 당 7.5×10^5 세포 미만, 용량 당 5×10^5 세포 미만, 용량 당 2.5×10^5 세포 미만, 또는 용량 당 1×10^5 세포 미만)이다.

[0351] 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 치료적 유효량은 치료 과정동안 10×10^{12} 세포 미만(예를 들어, 치료 과정동안 9×10^{12} 세포 미만, 8×10^{12} 세포 미만, 7×10^{12} 세포 미만, 6×10^{12} 세포 미만, 5×10^{12} 세포 미만, 4×10^{12} 세포 미만, 3×10^{12} 세포 미만, 2×10^{12} 세포 미만, 1×10^{12} 세포 미만, 9×10^{11} 세포 미만, 8×10^{11} 세포 미만, 7×10^{11} 세포 미만, 6×10^{11} 세포 미만, 미만 5×10^{11} 세포 미만, 4×10^{11} 세포 미만, 3×10^{11} 세포 미만, 2×10^{11} 세포 미만, 1×10^{11} 세포 미만, 9×10^{10} 세포 미만, 7.5×10^{10} 세포 미만, 5×10^{10} 세포 미만, 2.5×10^{10} 세포 미만, 1×10^{10} 세포 미만, 7.5×10^9 세포 미만, 5×10^9 세포 미만, 2.5×10^9 세포 미만, 1×10^9 세포 미만, 7.5×10^8 세포, 5×10^8 세포 미만, 2.5×10^8 세포 미만, 1×10^8 세포 미만, 7.5×10^7 세포 미만, 5×10^7 세포 미만, 2.5×10^7 세포 미만, 1×10^7 세포 미만, 7.5×10^6 미만 세포, 5×10^6 세포 미만, 2.5×10^6 세포 미만, 1×10^6 세포 미만, 7.5×10^5 세포 미만, 5×10^5 세포 미만, 2.5×10^5 세포 미만 또는 1×10^5 세포 미만)이다.

[0352] 일부 실시예에서, 본 명세서에 기재된 $\gamma \delta$ T 세포의 용량은 약 1×10^6 , 1.1×10^6 , 2×10^6 , 3.6×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 1.8×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 또는 5×10^8 세포/kg을 포함한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 용량은 최대 약 1×10^6 , 1.1×10^6 , 2×10^6 , 3.6×10^6 , 5×10^6 , 1×10^7 , 1.8×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 또는 5×10^8 세포/kg을 포함한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 용량은 약 $1.1 \times 10^6 - 1.8 \times 10^7$ 세포/kg을 포함한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 용량은 약 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 또는 5×10^9 세포를 포함한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 용량은 최소 약 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 또는 5×10^9 세포를 포함한다. 일부 실시예에서, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)의 용량은 최대 1×10^7 , 2×10^7 , 5×10^7 , 1×10^8 , 2×10^8 , 5×10^8 , 1×10^9 , 2×10^9 또는 5×10^9 세포를 포함한다.

[0353] 일 실시예에서, 대상은 대상의 체중 kg 당 10^4 내지 10^6 개의 $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, 피부-유래 $\gamma \delta$ T 세포 및/또는, V δ 1 T 세포)를 투여 받는다. 일 실시예에서, 대상은 $\gamma \delta$ T 세포 집단의 개시 투여(예를 들어, 대상의 체중 kg 당 10^4 내지 10^6 $\gamma \delta$ T 세포, 예를 들어, 대상의 체중 kg 당 10^4 내지 10^5 $\gamma \delta$ T 세포의 개시 투여)와

$\gamma \delta$ T 세포의 1회 이상(예를 들어, 2, 3, 4 또는 5)의 후속 투여(예를 들어, 대상의 체중 kg 당 10^4 내지 10^6 $\gamma \delta$ T 세포, 예를 들어 대상 체중 kg 당 10^4 내지 10^5 $\gamma \delta$ T 세포의 1회 이상의 후속 투여)를 받는다. 일 실시예에서, 1회 이상의 후속 투여는 이전 투여 후 15일 미만, 예를 들어 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 또는 2 일 후, 예를 들어, 이전 투여 후 4, 3, 또는 2일 미만에 투여된다. 일 실시예에서, 대상은 최소 3 회의 $\gamma \delta$ T 세포 집단의 투여 과정에 걸쳐 대상의 체중 kg 당 총 약 10^6 $\gamma \delta$ T 세포를 투여받으며, 예를 들어 대상은 1×10^5 $\gamma \delta$ T 세포의 개시 용량, 3×10^5 $\gamma \delta$ T 세포의 2차 투여 및 6×10^5 $\gamma \delta$ T 세포의 3차 투여를 받으며, 예를 들어, 각 투여는 이전 투여 후 4, 3 또는 2 일 이내에 투여된다.

[0354] 일부 실시예에서, 하나 이상의 추가 치료제가 대상에게 투여될 수 있다. 추가 치료제는 면역 치료제, 세포독성제, 성장억제제, 방사선 치료제, 항-혈관신생제, 또는 이들의 2개 이상의 제제의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 추가 치료제는 $\gamma \delta$ T 세포의 투여와 동시에, 이전에 또는 이후에 투여될 수 있다. 추가 치료제는 면역 치료제일 수 있으며, 이는 대상의 신체 내 표적(예를 들어, 대상 자신의 면역계) 및/또는 전달된 $\gamma \delta$ T 세포에 작용할 수 있다.

[0355] 조성물의 투여는 임의의 편리한 방식으로 수행될 수 있다. 본 명세서에 기재된 조성물은 경동맥으로, 피하로, 피내로, 종양 내로, 비강 내로, 골수 내로, 근육 내로, 정맥 내 주사에 의해, 또는 복강 내로, 예를 들어 피내 또는 피하 주사에 의해 환자에게 투여될 수 있다. $\gamma \delta$ T 세포의 조성물은 종양, 림프절 또는 감염 부위에 직접 주사될 수 있다.

[0356] 유전자 공학

[0357] 본 발명의 방법에 의해 수득된 $\gamma \delta$ T 세포는 또한 CAR-T(Chimeric Antigen Receptor T cell) 요법과 같이 향상된 치료 특성을 위해 유전자 조작될 수 있다. 이것은 새로운 특이성, 예를 들어 단일클론 항체의 특이성을 갖는 T 세포를 재프로그래밍하기 위해 조작된 T 세포 수용체(TCR)의 생성을 포함한다. 조작된 TCR은 T 세포를 악성 종양 세포에 특이적으로 만들 수 있으므로 암 면역요법에 유용하다. 예를 들어, T 세포는 대상 조직의 정상 체세포에 의해 발현되지 않는 종양관련 항원과 같은 종양 항원을 발현하는 암 세포를 인식할 수 있다. 따라서, CAR-변형된 T 세포는, 예를 들어 암 환자의, 입양 T 세포 치료에 사용될 수 있다.

[0358] **항체 또는 이의 단편의 기타 용도**

[0359] 본 발명의 추가 양태에 따르면, $\gamma \delta$ T 세포(특히 V δ 1 T 세포)의 항원 인식, 활성화, 신호 전달 또는 기능을 연구하기 위한 본 명세서에 기재된 항-V δ 1 항체 또는 이의 단편의 용도가 제공된다. 본 명세서에 기재된 바와 같이, 상기 항체는 $\gamma \delta$ T 세포 기능을 조사하는 데 사용될 수 있는 분석에서 활성임을 보여주었다. 상기 항체는 또한 $\gamma \delta$ T 세포의 증식을 유도하는 데 유용할 수 있으므로, $\gamma \delta$ T 세포(예를 들어, V δ 1 T 세포)를 증식하는 방법에 사용될 수 있다.

[0360] V δ 1 사슬에 결합하는 항체는 $\gamma \delta$ T 세포를 검출하는 데 사용될 수 있다(즉, 표지로서). 바람직하게는, 표지로 사용된 항체는 세포 증식을 자극하지 않아 표적 V δ 1 T 세포는 항체 결합에 영향을 받지 않는다. 예를 들어, 상기 항체는 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지되거나 시료에서 V δ 1 T 세포를 선택적으로 검출 및/또는 분리하기 위한 포획 리간드로 사용될 수 있다. 표지된 항체는 당업계에 공지된 많은 방법, 예를 들어 면역 조직 화학 및 ELISA에서 사용된다.

[0361] ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S 또는 ^{125}I 와 같은 방사성 동위원소; 플루오레세인, 이소티오시아네이트 또는 로다민과 같은 형광성 또는 화학 발광성 잔기; 또는 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제, 양고추냉이 퍼옥시다제(horseradish peroxidase) 또는 루시페라제와 같은 효소일 수 있다. 본 발명의 항체에 적용된 형광 표지는 이후 형광-활성화 세포 분류(FACS) 방법에 사용될 수 있다.

[0362] **폴리뉴클레오티드 및 발현 벡터**

[0363] 또한 본 발명의 항-V δ 1 항체 또는 단편을 암호화하는 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 일 실시예에서, 상기 항-V δ 1 항체 또는 단편은 서열번호: 99-110과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 항-V δ 1 항체 또는 단편은 서열번호: 99-110의 VH 영역을 포함하는 발현 벡터에 의해 암호화된다. 다른 실시예에서, 항-V δ 1 항체 또는 단편은 서열번호: 99-110의 VL 영역을 포함하는 발현 벡터에 의해 암호화된다. 추가 실시예에서 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-110을 포함하거나, 이로 이루어진다. 추가 양태에서, 상기 폴리뉴

클레오티드를 포함하는 cDNA가 제공된다.

- [0364] 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-110과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-110의 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-110의 VL 영역을 포함한다. 추가 실시예에서 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-110을 포함하거나, 이로 이루어진다. 추가 양태에서, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 cDNA가 제공된다.
- [0365] 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-101 또는 105-108과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-101 또는 105-108의 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-101 또는 105-108의 VL 영역을 포함한다. 추가 실시예에서 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-101 또는 105-108을 포함하거나, 이로 이루어진다. 추가 양태에서, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 cDNA가 제공된다.
- [0366] 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-101과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-101의 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-101의 VL 영역을 포함한다. 추가 실시예에서 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 99-101을 포함하거나, 이로 이루어진다. 추가 양태에서, 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 cDNA가 제공된다.
- [0367] 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3를 암호화하는 서열번호: 99-110과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3를 암호화하는 서열번호: 99-101 또는 105-108과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3를 암호화하는 서열번호: 99-101과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다.
- [0368] 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4를 암호화하는 서열번호: 99-110과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4를 암호화하는 서열번호: 99-101 또는 105-108과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 암호화된 면역글로불린 사슬 가변 도메인의 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4를 암호화하는 서열번호: 99-101과 70% 이상, 예를 들어 80% 이상, 예를 들어 90% 이상, 예를 들어 95% 이상, 예를 들어 99% 이상 서열 상동성을 갖는 서열을 포함하거나, 이로 이루어진다.
- [0369] 본 발명의 폴리뉴클레오티드 및 발현 벡터는 또한 암호화된 아미노산 서열을 참조하여 기재될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오티드는 서열번호: 62 내지 85 중 어느 하나의 아미노산 서열을 암호화하는 서열을 포함하거나 이로 이루어진다. 일 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 62 내지 73 중 어느 하나의 아미노산 서열을 암호화하는 서열을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 74 내지 85 중 어느 하나의 아미노산 서열을 암호화하는 서열을 포함한다.
- [0370] 상기 항체 또는 이의 단편을 발현하기 위해, 본 명세서에 기재된 바와 같이, 유전자가 전사 및 번역 제어 서열에 작동가능하게 연결되도록 일부 또는 전장 경 사슬 및 중 사슬을 암호화하는 폴리뉴클레오티드를 발현 벡터에 삽입하였다. 따라서, 본 발명의 일 양태에서 본 명세서에 정의된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터가 제공된다. 일 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-110, 예를 들어, 99, 100, 101, 105, 106, 107 또는 108의 VH 영역을 포함한다. 다른 실시예에서, 상기 발현 벡터는 서열번호: 99-110, 예를 들어, 99, 100, 101, 105, 106, 107 또는 108의 VL 영역을 포함한다.
- [0371] 본 명세서에 기재된 뉴클레오티드 서열은 번역, 정제 및 검출을 돕기 위한 아미노산 잔기를 암호화하는 추가 서

열을 포함하지만, 사용된 발현 시스템에 따라 다른 서열이 사용될 수 있음은 당연하다. 예를 들어, 서열번호: 99-110의 초기(5'-말단) 9개 뉴클레오타이드 및 서열번호: 99-100, 102-103, 105-110의 최종(3'-말단) 36개 뉴클레오타이드, 또는 서열번호: 101 및 104의 최종(3'-말단) 39개 뉴클레오타이드는 선택적 서열이다. 상기 선택적 서열은 대체 설계, 번역, 정제 또는 검출 전략이 채택되는 경우 제거, 수정 또는 대체될 수 있다.

[0372] 폴리펩타이드의 아미노산 서열에 관해서는 언급되지 않으나 특정 숙주에서 번역을 위한 바람직한 코돈을 제공하는 폴리펩타이드를 암호화하는 DNA 또는 cDNA에 돌연변이가 만들어질 수 있다. 예를 들어, 포유동물, 특히 인간뿐 아니라 *E. coli* 및 *S. cerevisiae* 에서도 핵산의 번역을 위한 바람직한 코돈은 공지되어 있다.

[0373] 폴리펩타이드의 돌연변이는 예를 들어 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 대한 치환, 부가 또는 결실에 의해 달성될 수 있다. 상기 폴리펩타이드를 암호화하는 핵산에 대한 치환, 부가 또는 결실은 예를 들어 실수유발 PCR(error-prone PCR), 셔플링(shuffling), 올리고뉴클레오타이드-지정 돌연변이유발, 어셈블리 PCR, PCR 돌연변이유발, 생체 내 돌연변이유발, 카세트 돌연변이유발, 반복적 양상불 돌연변이유발, 지수 양상불 돌연변이유발, 부위 특이적 돌연변이 유발, 유전자 재조합, 인공 유전자 합성, 유전자 부위 포화 돌연변이유발(GSSM, Gene Site Saturation Mutagenesis), 합성 결찰 재조합(SLR, Synthetic Ligation Reassembly) 또는 이들 방법의 조합을 포함하는 많은 방법에 의해 도입될 수 있다. 핵산에 대한 변형, 추가 또는 결실은 또한 재조합, 반복적 서열 재조합, 포스포티오에이트-변형된 DNA 돌연변이유발, 우라실-함유 주형 돌연변이유발, 갭 이중 돌연변이유발(gapped duplex mutagenesis), 점 불일치 수선 돌연변이유발, 수선-결합 숙주 균주 돌연변이유발, 화학적 돌연변이유발, 방사성 돌연변이유발, 결실 돌연변이유발, 제한-선택 돌연변이유발, 제한-정제 돌연변이유발, 양상불 돌연변이유발, 키메라 핵산 다량체 생성, 또는 이들의 조합을 포함하는 방법에 의해 도입될 수 있다.

[0374] 특히 인공 유전자 합성이 사용될 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드를 암호화하는 유전자는 예를 들어 고체-상 DNA 합성에 의해 합성적으로 생성될 수 있다. 전체 유전자는 전구체 주형 DNA가 필요 없이 새롭게 합성될 수 있다. 원하는 올리고뉴클레오타이드를 얻기 위해, 빌딩 블록은 생성물의 서열이 요구하는 순서대로 성장하는 올리고뉴클레오타이드 사슬에 순차적으로 결합된다. 사슬 조립이 완료되면 생성물을 고체 상으로부터 용액으로 방출하고, 보호를 해제하고 수집한다. 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)로 생성물을 분리하여 원하는 올리고뉴클레오타이드를 고순도로 분리할 수 있다.

[0375] 발현 벡터는 예를 들어 플라스미드, 레트로바이러스, 코스미드, 효모 인공 염색체(YACs, yeast artificial chromosomes) 및 엡스타인-바 바이러스(EBV) 유래 에피솜을 포함 한다. 상기 폴리뉴클레오타이드는 벡터 내의 전사 및 번역 제어 서열이 폴리뉴클레오타이드의 전사 및 번역을 제어하는 의도된 기능을 수행하도록 벡터에 결합된다. 발현 및/또는 제어 서열은 프로모터, 인핸서, 전사 종결자, 암호화 서열에 대한 개시 코돈(즉, ATG) 5', 인트론 및 정지 코돈에 대한 스플라이싱 신호를 포함할 수 있다. 상기 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용된 발현 숙주 세포와 호환되도록 선택된다. 서열 번호: 99-110은 (예를 들어, 서열 번호: 98을 암호화하는) 합성 링커에 의해 연결된 VH 영역 및 VL 영역을 포함하는 본 발명의 단일 사슬 가변 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 또는 발현 벡터는 VH 영역, VL 영역 또는 둘 모두(선택적으로 링커를 포함함)를 포함할 수 있음은 당연하다. 따라서, VH 및 VL 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 별도의 벡터에 삽입될 수 있으며, 또는 두 영역을 암호화하는 서열은 동일한 발현 벡터에 삽입된다. 상기 폴리뉴클레오타이드는 표준 방법(예를 들어, 상기 폴리뉴클레오타이드 및 벡터 상의 상보적 제한 부위의 결찰, 또는 제한 부위가 존재하지 않는 경우 평할 말단 결찰)에 의해 발현 벡터 내로 삽입된다.

[0376] 편리한 벡터는 본 명세서에 기술된 바와 같이 임의의 VH 또는 VL 서열이 용이하게 삽입 및 발현될 수 있도록 조작된 적절한 제한 부위와 함께, 기능적으로 완전한 인간 CH 또는 CL 면역글로불린 서열을 암호화하는 벡터이다. 상기 발현 벡터는 또한 숙주 세포로부터 상기 항체(또는 이의 단편)의 분비를 촉진하는 신호 펩타이드를 암호화할 수 있다. 상기 폴리뉴클레오타이드는 상기 신호 펩타이드가 항체의 아미노 말단에 프레임-내 연결되도록 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 상기 신호 펩타이드는 면역글로불린 신호 펩타이드 또는 이중 신호 펩타이드(즉, 비-면역글로불린 단백질 유래의 신호 펩타이드)일 수 있다.

[0377] 숙주 세포는 상기 항체 또는 이의 단편의 경 사슬을 암호화하는 제1 벡터, 및 상기 항체 또는 이의 단편의 중 사슬을 암호화하는 제2 벡터를 포함할 수 있다. 또는, 중 사슬 및 경 사슬은 모두 숙주 세포에 도입되는 동일한 발현 벡터 상에 암호화된다. 일 실시예에서, 상기 폴리뉴클레오타이드 또는 발현 벡터는 상기 항체 또는 이의 단편에 융합된 막 앵커 또는 막형단 도메인을 암호화하고, 여기서 상기 항체 또는 이의 단편은 숙주 세포의 세포외 표면 상에 존재한다.

[0378] 형질전환은 폴리뉴클레오타이드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 임의의 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 포

유동물 세포에 이중 폴리뉴클레오티드를 도입하는 방법은 당업계에 공지되어 있으며 텍스트란-매개 형질감염, 인산칼슘 침전, 폴리브렌(polybrene)-매개 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 리포솜 내 폴리뉴클레오티드의 캡슐화, 유전자총 주입(biolistic injection) 및 DNA를 핵에 직접 미세 주입하는 것을 포함한다. 또한, 핵산 분자는 바이러스 벡터에 의해 포유동물 세포에 도입될 수 있다.

[0379] 발현을 위한 숙주로서 이용가능한 포유동물 세포주는 당업계에 공지되어 있으며, ATCC(American Type Culture Collection)으로부터 입수가 가능한 많은 불멸화 세포주를 포함한다. 여기에는 특히 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, NSO, SP2 세포, HeLa 세포, 아기 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예를 들어, Hep G2), A549 세포, 3T3 세포 및 다수의 기타 세포주가 포함된다. 포유동물 숙주 세포는 인간, 마우스, 생쥐, 개, 원숭이, 돼지, 염소, 소, 말 및 햄스터 세포를 포함한다. 특히 바람직한 세포주는 어떤 세포주가 높은 발현 수준을 갖는 지를 결정하는 것을 통해 선택된다. 사용될 수 있는 다른 세포주는 Sf9 세포와 같은 곤충 세포주, 양서류 세포, 박테리아 세포, 식물 세포 및 진균 세포이다. scFv 및 Fv 단편과 같은 항체의 항원-결합 단편은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 *E. coli*에서 단리 및 발현될 수 있다.

[0380] 항체는 숙주 세포에서 항체의 발현되거나, 또는 보다 바람직하게는 숙주 세포가 성장하는 배양 배지로 항체가 분비되기에 충분한 기간 동안 숙주 세포를 배양함으로써 생산된다. 상기 항체는 표준 단백질 정제 방법을 사용하여 배양 배지에서 회수할 수 있다.

[0381] 본 발명의 항체(또는 단편)는 예를 들어 Green and Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2012) 4th Edition Cold Spring Harbor Laboratory Press에 개시된 기술을 사용하여 수득 및 조작할 수 있다.

[0382] 단일클론 항체는 하이브리도마 기술을 사용하여 조직 배양에서 성장하는 능력 및 항체 사슬 합성의 부재로 인해 선택된 골수종(B 세포 암) 세포와 특정 항체를 생산하는 B 세포를 융합함으로써 생산할 수 있다.

[0383] 결정된 항원에 대한 단일클론 항체는 예를 들어;

[0384] a) 하이브리도마를 형성하기 위해 결정된 항원, 불멸 세포 및 바람직하게는 골수종 세포로 미리 면역화된 동물의 말초 혈액으로부터 얻은 림프구를 불멸화하고,

[0385] b) 형성된 불멸화 세포(하이브리도마)를 배양하고 원하는 특이성을 갖는 항체를 생산하는 세포를 회수하는 것에 의해 수득될 수 있다.

[0386] 또는 하이브리도마 세포를 사용할 필요가 없다. 본 명세서에 기재된 표적 항원에 결합할 수 있는 항체는 적절한 항체 라이브러리로부터 당업계에 공지된 통상의 방법, 예를 들어, 파지 디스플레이, 효모 디스플레이, 리보솜 디스플레이 또는 포유동물 디스플레이 기술을 사용하여 단리될 수 있다. 따라서, 단일클론 항체는 예를 들어 다음 단계를 포함하는 방법에 의해 수득될 수 있다:

[0387] a) 림프구, 특히 (결정된 항원으로 적절하게 미리 면역화된) 동물의 말초 혈액 림프구로부터 얻은 DNA 또는 cDNA 서열을 벡터, 특히 파지 및 보다 상세하게는 사상 박테리오파지로 클로닝하는 단계,

[0388] b) 항체의 생산을 허용하는 조건에서 상기 벡터로 원핵 세포를 형질전환시키는 단계,

[0389] c) 항체를 항원-친화성 선택에 적용하여 항체를 선택하는 단계,

[0390] d) 원하는 특이성을 갖는 항체를 회수하는 단계.

[0391] 본 명세서에 설명된 모든 실시예는 본 발명의 모든 양태에 적용될 수 있음은 당연하다.

[0392] 본 발명의 다른 특징 및 장점은 본 명세서에 제공된 설명으로부터 자명할 것이다. 그러나, 다양한 변경 및 변형이 당업자에게 자명할 것이기 때문에, 설명 및 특정 실시예는 본 발명의 바람직한 실시예를 나타내면서 단지 예시의 방식으로 제공되는 것으로 이해되어야 한다. 이제 하기의 비제한적인 실시예를 사용하여 본 발명을 설명한다.

[0393] 실시예

[0394] 실시예 1. 재료 및 방법

[0395] 인간 항체 발견

[0396] 인간 파지 디스플레이를 사용하여 본 명세서에 기재된 인간 항-인간 가변 V_H1+ 도메인 항체를 생성하였다. 라이브러리는 Schofield et al.(Genome Biology 2007, 8 (11): R254)에 기재된 대로 구축되었으며, ~400억 인간

클론의 라이브러리를 표시하는 단일 사슬 단편 가변(scFv)을 포함한다. 상기 라이브러리를 본 명세서에 기술된 항원, 방법, 선택, 선택 해제, 스크리닝 및 특징화 전략을 사용하여 스크리닝하였다.

[0397] 항원 준비

[0398] 하기 실시예에서 사용된 TCR α 및 TCR β 불변 영역을 포함하는 가용성 $\gamma\delta$ TCR 이중이량체의 설계는 Xu et al. (2011) PNAS 108: 2414-2419에 따라 생성되었다. $V\gamma$ 또는 $V\delta$ 도메인은, 막형단 도메인이 결여되고, 류신 지퍼 서열 또는 Fc 서열, 및 히스티딘 태그/링커가 뒤따르는 TCR α 또는 TCR β 불변 영역에 프레임 내 융합되었다.

[0399] 발현 구조물을 포유동물 EXPI HEK293 현탁 세포에 (이중이량체에 대한 단일 또는 공동-형질감염으로서) 일시적으로 형질감염하였다. 분비된 재조합 단백질을 회수하고 친화성 크로마토그래피에 의해 배양 상등액으로부터 정제하였다. 단량체 항원의 확실한 회수를 보장하기 위해 시료를 제조용 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 추가로 정제하였다. 정제된 항원은 SDS-PAGE로 순도 분석을 실시하고, 분석 SEC에 의해 응집 상태를 분석하였다.

[0400] 항원 기능 검증

[0401] 델타 가변 1($V\delta 1$) 사슬을 함유하는 항원의 특이성은 REA173-Miltenyi Biotec 항- $V\delta 1$ 항체를 사용하여 $\gamma\delta$ T 세포와 경쟁적인 DELFIA 면역분석(Perkin Elmer) 및 유동 기반 분석으로 확인하였다.

[0402] 해리 강화 란탄족 형광 면역분석법(DELFIA)

[0403] 항원 특이성을 확인하기 위하여, 플레이트에 직접 코팅된 항원(50 μ L PBS 중 3 μ g/mL 농도의 항원(Nunc #437111)으로 4°C에서 밤새)과 300nM에서 시작하는 1차 항체의 연속 희석으로 DELFIA 면역분석을 수행하였다. 검출을 위해 DELFIA Eu-N1 항-인간 IgG(Perkin Elmer #1244-330)를 3% MPBS(PBS + 3%(w/v) 탈지분유) 50 μ L에 1/500 희석하여 이차 항체로 사용하였다. 50 μ L의 DELFIA 강화 용액(Perkin Elmer #4001-0010)을 사용하여 현상하였다.

[0404] 관심 항체의 친화도 순위는 항체를 플레이트에 코팅된 단백질 G를 통해 포획하고 가용성 비오티닌화 L1 (DV1-GV4) 항원을 5nM에서 50 μ L으로 (3MPBS) 첨가하는 DELFIA 면역분석을 사용하여 정하였다. 검출을 위해 50 μ L의 streptavidin-Eu (1:500 in assay buffer, Perkin Elmer)를 사용하고 DELFIA 강화 용액으로 신호를 현상하였다. D1.3 hIgG1(England et al. (1999) J. Immunol. 162: 2129-2136에 기재됨)을 음성 대조군으로 사용하였다.

[0405] 파지 디스플레이 선택 출력은 scFv 발현 벡터 pSANG10(Martin et al. (2006) BMC Biotechnol. 6: 46)으로 서브클로닝하였다. 가용성 scFv를 발현시키고 직접 고정된 표적에서 DELFIA에서의 결합에 대해 스크리닝하였다. 히트(Hits)는 3000 형광 단위 이상의 DELFIA 신호로 정의하였다.

[0406] 항체 준비

[0407] 선택된 scFv는 시판되는 플라스미드를 사용하여 IgG1 프레임워크로 서브클로닝하였다. 항체 발현을 위해 expi293F 현탁 세포를 상기 플라스미드로 형질감염시켰다. 편의상, 별도로 언급되지 않는 한, 상기 실시예에서 특징화된 항체는 scFv로서 파지 디스플레이로부터 선택된 IgG1 형태화된 항체를 지칭한다. 그러나, 본 발명의 항체는 전술한 바와 같이 임의의 항체 형태일 수 있다.

[0408] 항체 정제

[0409] IgG 항체는 단백질 A 크로마토그래피를 사용하여 상등액으로부터 배치 정제하였다. 농축된 단백질 A 용출액을 크기 배제 크로마토그래피(SEC)를 사용하여 정제하였다. 정제된 IgG의 품질은 ELISA, SDS-PAGE 및 SEC-HPLC를 사용하여 분석하였다.

[0410] $\gamma\delta$ T 세포 준비

[0411] 농축된 $\gamma\delta$ T 세포의 집단은 W02016/198480(즉, 혈액-유래 $\gamma\delta$ T 세포) 또는 W02020/095059(즉, 피부-유래 $\gamma\delta$ T 세포)에 기재된 방법에 따라 제조하였다. 간단하게는, 혈액-유래 $\gamma\delta$ T 세포의 경우 PBMC를 혈액에서 수득하고 $\alpha\beta$ T 세포의 자기 고갈을 실시하였다. 이후 $\alpha\beta$ -고갈된 PBMC를 OKT-3(또는 각각의 항- $V\delta 1$ 항체), IL-4, IFN- γ , IL-21 및 IL-1 β 의 존재 하에 CTS OpTmiser 배지(ThermoFisher)에서 7일 동안 배양하였다. 배양 7일째, 배지에 OKT-3(또는 각각의 항- $V\delta 1$ 항체), IL-21 및 IL-15를 추가 4일 동안 보충하였다. 배양 11일

제, 배지에 OKT-3(또는 각각의 항-V δ 1 항체) 및 IL-15를 추가 3일 동안 보충하였다. 배양 14일째, 배지의 절반을 신선한완전 OpTmiser 배지로 교체하고 OKT-3(또는 각각의 항-V δ 1 항체), IL-15 및 IFN- γ 로 보충하였다. 배양 17일째부터 배양물에 OKT-3(또는 각각의 항-V δ 1 항체) 및 IL-15를 3-4일마다 보충하고; 배지의 절반을 7일마다 새 배지로 교체하였다.

[0412] 피부-유래 $\gamma\delta$ T 세포의 경우, 피하 지방을 제거하여 피부 시료를 준비하고 3mm 생검 펀치를 사용하여 복수의 펀치를 만들었다. 펀치를 탄소 매트릭스 그리드에 놓고 G-REX6(Wilson Wolf)의 웰에 배치하였다. 각 웰은 AIM-V 배지(Gibco, Life Technologies), CTS 면역 혈청 대체제(Life Technologies), IL-2 및 IL-15를 포함하는 완전 단리 배지로 충전하였다. 배양의 처음 7일 동안, Amphotericin B(Life Technologies)를 포함하는 완전 단리 배지("+AMP")를 사용하였다. 배지는 플레이트 또는 생물반응기의 바닥에 있는 세포를 교란하지 않도록 주의하면서 상층 배지를 부드럽게 흡인하고 2X 완전 단리 배지(AMP가 없는)로 교체하는 것에 의해 7일마다 교체하였다. 배양 3주를 초과하여, 수득 전에 생성된 유출 세포를 새로운 조직 배양 용기 및 재조합 IL-2, IL-4, IL-15 및 IL-21가 추가된 새로운 배지(예를 들어, AIM-V 배지 또는 TexMAX 배지(Miltenyi))로 계대배양하였다. 선택적으로, 배양물 내에도 존재하는 $\alpha\beta$ T 세포는 Miltenyi에서 제공하는 것과 같은 $\alpha\beta$ T 세포 고갈 키트 및 관련 프로토콜의 도움으로 제거하였다. 추가 참조는 W02020/095059를 참조할 수 있다.

[0413] $\gamma\delta$ T 세포 결합 분석

[0414] $\gamma\delta$ T 세포에 대한 항체의 결합은 250000개의 $\gamma\delta$ T 세포와 함께 고정된 농도의 정제된 항체를 배양함으로써 결정하였다. 상기 배양은 Fc 수용체를 통한 항체의 비특이적 결합을 방지하기 위해 차단 조건에서 수행하였다. 인간 IgG1에 대한 2차 형광 염료-접합 항체를 첨가하여 검출을 수행하였다. 음성 대조군의 경우, 세포는 a) 이소형 항체 단독(재조합 인간 IgG), b) 형광 염료-접합 항-인간 IgG 항체 단독 및 c) a) 및 b)의 조합으로 제조하였다. 완전히 염색되지 않은 세포의 대조군 웰도 준비하고 분석하였다. 양성 대조군으로, 정제된 무린 단일 클론 IgG2 항-인간 CD3 항체 및 정제된 무린 단일클론 IgG1 항-인간 TCR V δ 1 항체를 2가지 상이한 농도로 사용하고, 형광 염료-접합 염소 항-마우스 2차 항체로 염색하였다. FITC 채널에서 농도가 더 낮은 양성 대조군의 평균 형광 강도가 최고 음성 대조군보다 10배 이상 높은 경우 분석을 승인하였다.

[0415] SPR 분석

[0416] 아민 고용량 칩을 갖는 MASS-2 기기(모두 Sierra Sensors, 독일)를 사용하여 SPR 분석을 수행하였다. 15nM IgG는 단백질 G를 통해 아민 고용량 칩(TS8.2의 경우, 100nM)으로 포획하였다. L1(DV1-GV4) 항원은 다음 매개 변수를 사용하여 2000nM 에서 15.625nM 까지의 1:2 연속 희석으로 세포 위로 흘려보냈다: 180초 회합, 600초 해리, 유속 30 μ L/분, 러닝 완충액 PBS + 0.02%. 모든 실험은 MASS-2 기기에서 상온에서 수행하였다. 정상 상태 피팅은 소프트웨어 Sierra Analyzer 3.2를 사용하여 Langmuir 1:1 결합에 따라 결정하였다.

[0417] 비교 항체

[0418] 항체는 기재된 바와 같이 검정 분석에서 시판되는 항체와 비교하였다.

항체	입수원	카탈로그 번호
Ultra-LEAF™ 정제된 항-인간 CD3 항체(OKT3), 기능성	Biolegend	317326
Ultra-LEAF™ 정제된 항-인간 IgG2a 항체(OKT3 대한 이소형 대조군)	Biolegend	400264
인간 TCR V δ 1 정제된 mAb (기능성 TS8.2)	ThermoFisher	TCR1730
Ultra-LEAF™ 정제 마우스 IgG1, TS8.2에 대한 κ 이소형 대조군 항체	Biolegend	400166
항인간 CD107a BV421(클론 H4A3)	BD Biosciences	562623
BV421 마우스 IgG1, κ 이소형 대조군 클론 X40(RUO)	BD Biosciences	562438
항-TCR V δ 1-PE-Vio770, 인간(흐름, 중단됨)	Miltenyi	130-100-540

[0419]

[0420] γ δ TCR 하향조절 및 탈과립 분석

[0421] 검정 항체가 로딩되거나 로딩되지 않은 THP-1(TIB-202™, ATCC) 표적 세포는 CellTracker™ Orange CMTMR(ThermoFisher, C2927)로 표지하고, CD107a 항체 (항-인간 CD107a BV421(클론 H4A3) BD Biosciences 562623)의 존재 하에 2:1의 비율로 γ δ T 세포와 함께 배양하였다. 2시간 배양 후, γ δ T 세포에서의 γ δ TCR의 표면 발현(TCR 하향조절을 측정하기 위함) 및 CD107a의 발현(탈과립을 측정하기 위함)을 유세포 분석을 사용하여 평가하였다.

[0422] 사멸 분석

[0423] 감마 델타 T 세포 사멸 활성 및 γ δ T 세포의 사멸 활성에 대한 검정 항체의 영향을 유세포 분석에 의해 평가 하였다. γ δ T 세포와 CellTracker™ Orange CMTMR(ThermoFisher, C2927)로 표지된 (검정 항체가 로딩되거나 로딩되지 않은) THP-1 세포를 20:1 비율로 시험관 내에서 4시간 동안 공동-배양한 후, 살아있는 표적 THP-1 세포와 죽은 표적 THP-1 세포를 구별하기 위해 생존성 염료 eFluor™ 520(ThermoFisher, 520 65-0867-14)로 염색하였다. 시료를 수집하는 동안 표적 세포는 CellTracker™ Orange CMTMR 양성에 대해 게이트팅하였고, 생존성 염료의 흡수를 기반으로 세포 사멸에을 조사하였다. CMTMR 및 eFluor™ 520 이중 양성 세포는 죽은 표적 세포로 인정하였다. γ δ T 세포의 사멸 활성은 죽은 표적 세포의 %로 나타내었다.

[0424] 에피토프 매핑

[0425] 고-질량 MALDI를 사용하여 단백질 에피토프 매핑에 사용된 모든 단백질 시료(항원 L1(DV1-GV4) 및 항체 1245_P01_E07, 1245_P02_G04, 1252_P01_C08, 1251_P02_C05 및 1141_P01_E01)를 단백질 무결성 및 응집 수준에 대해 분석하였다.

[0426] L1(DV1-GV4)/1245_P01_E07, L1(DV1-GV4)/1245_P02_G04, L1(DV1-GV4)/1252_P01_C08, L1(DV1-GV4)/1251_P02_C05, 및 L1(DV1-GV4)/1141_P01_E01 복합체의 에피토프를 고분해능으로 결정하기 위하여, 단백질 복합체를 중수소화된 가교결합제와 함께 배양하고 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 써모리신 (thermolysin)을 사용하여 다중-효소 단백질분해를 실시하였다. 가교된 펩타이드를 농축한 후 시료를 고분해능 질량분석기(nLC -LTQ-Orbitrap MS)로 분석하고, 생성된 데이터를 XQuest 및 Stavrox 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0427] SYTOX-흐름 사멸 분석

[0428] SYTOX 분석은 유세포 분석을 사용하여 표적 세포의 T 세포 매개 세포용해를 정량화 할 수 있다. 죽은/죽어가는 세포는 건강한 세포의 온전한 세포막은 통과할 수 없으며 손상된 원형질막이 있는 세포에만 침투하는 사멸 세포 염색(SYTOX™ AADvanced™, Life Technologies, S10274)에 의해 검출된다. NALM-6 표적 세포는 CTV 염료(Cell

Trace Violet™, Life Technologies, C34557)로 표지하였으며, 따라서 표지되지 않은 작동체 T 세포와 구별될 수 있었다. 죽은/죽어가는 표적 세포는 죽은 세포 염료와 세포 추적 염료의 이중 염색을 통해 식별하였다.

[0429] 표시된 작동체 대 표적 세포 비율로(E:T, 1:1 또는 10:1) 작동체 및 CTV-표지된 표적 세포를 16시간 동안 시험관 내 공동 배양한 후, 세포를 SYTOX[®] AADvanced™로 염색하고 FACSLyric™(BD)에서 수집하였다. 사멸 결과는 작동체 세포가 추가되지 않은 대조군 웰의 살아있는 표적 세포(최대 카운트)에 대한 검정 시료에서의 살아있는 표적 세포의 수(시료 카운트)를 고려하여 계산된 % 표적 세포 감소로 나타내었다:

$$\% \text{ 표적 감소} = \frac{\text{시료 카운트}}{\text{최대 카운트}} \times 100$$

[0431] 실시예 2. 항원 설계

[0432] 감마 델타($\gamma\delta$) T 세포는 CDR3 다클론성을 갖는 다클론성이다. 생성된 항체가 CDR3 서열에 대해 선택되는 상황을 피하기 위해(CDR3 서열은 TCR 클론마다 다를 것이기 때문에), 항원 설계는 상이한 형태에서 일관된 CDR3를 유지하는 것을 포함하였다. 상기 설계는 가변 도메인 내의 서열을 인식하는 항체를 생성하는 것을 목표로 했으며, 이는 생식계로 암호화되며 따라서 모든 클론에서 동일하므로 $\gamma\delta$ T 세포의 더 넓은 서브세트를 인식하는 항체를 제공한다.

[0433] 항원 준비 과정의 다른 중요한 양태는 단백질로 발현하기에 적절한 항원을 설계하는 것이었다. $\gamma\delta$ TCR은 사슬간 및 사슬내 다이설파이드 결합이 있는 이중이량체를 포함하는 복잡한 단백질이다. 파지 디스플레이 선택에서 사용할 가용성 TCR 항원을 생성하기 위하여 류신 지퍼(LZ) 형태 및 Fc 형태를 사용하였다. LZ 및 Fc 형태는 모두 잘 발현되었으며, TCR(특히 이중이량체 TCRs, 예를 들어 V δ 1V γ 4)을 성공적으로 표시하였다.

[0434] $\gamma\delta$ TCR에 대한 공개 데이터베이스 항목 유래의 CDR3 서열은 단백질(RCSB Protein Data Bank 항목: 3OMZ)처럼 잘 발현되는 것으로 알려졌다. 따라서 항원 준비를 위해 이를 선택하였다.

[0435] 델타 가변 1 사슬을 함유하는 항원은 이중이량체(즉, 다른 감마 가변 사슬 - "L1", "L2", "L3"와 조합된)로서 LZ 형태 및 이중이량체("F1", "F2", "F3") 또는 동중이량체(즉, 다른 델타 가변 1 사슬 "Fc1/1"과 조합된)로서 Fc 형태로 발현되었다. 항원의 모든 델타 가변 1 사슬은 3OMZ CDR3를 함유하였다. 유사한 형태를 사용하는 다른 일련의 $\gamma\delta$ TCR 항원은 상이한 델타 가변 사슬(예를 들어, 델타 가변 2 및 델타 가변 3)을 포함하도록 설계되었으며, 비-특이적 또는 표적외 결합을 갖는 항체("L4", "F9", "Fc4/4", "Fc8/8")를 선택 해제하는 데 사용되었다. 이러한 항원은 또한 3OMZ CDR3를 포함하도록 설계되어 CDR3 영역에서 결합하는 항체도 선택 해제되도록 하였다.

[0436] 설계된 항원이 항-TRDV1(TCR 델타 가변 1) 항체를 생성하는 데 적절함을 확인하기 위하여 항원 기능 검증을 수행하였다. δ 1 도메인을 함유하는 항원에서만 검출이 나타났다(도 1).

[0437] 실시예 3. 파지 디스플레이

[0438] 파지 디스플레이 선택은 라운드 1 및 2에서 이중이량체 LZ TCR 형태를 사용하여 인간 scFv 의 라이브러리에 대해 수행하였으며, 양 라운드 모두에서 이중이량체 LZ TCR에 대한 선택 해제를 수행하였다. 또는 동중이량체 Fc 융합 TCR을 사용하여 인간 IgG1 Fc에 대한 선택 해제를 하며 라운드 1을 수행한 후, 이중이량체 LZ TCR에 대해 이중이량체 LZ TCR에 대한 선택 해제를 하며 라운드 2를 수행하였다(표 1 참조).

[0439] 표 1. 파지 디스플레이 선택 개요

표적	라운드 1 선택	라운드 1 선택 해제	라운드 2 선택	라운드 2 선택 해제
DV1	bt-L1(DV1-GV4)	L4(DV2-GV4)	bt-L3(DV1-GV8)	L4(DV2-GV4)
DV1	bt-Fc1/1(DV1-DV1)	Fc	bt-L1(DV1-GV4)	L4(DV2-GV4)

[0440] bt = 비오틴.

[0441] 선택은 100 nM 비오틴화된 단백질을 사용하여 용액상에서 수행하였다. 선택 해제는 1 μ M 비오틴화 되지 않은 단백질을 사용하여 수행하였다.

[0442] 파지 디스플레이 선택의 성공은 다클론 파지 ELISA(DELFA)에 의해 분석하였다. 모든 DV1 선택 출력은 표적 Fc

1/1, L1, L2, L3, F1 및 F3에 원하는 결합을 보여주었다. 비-표적 L4, F9, Fc 4/4, Fc 8/8 및 Fc에 대한 다양한 결합도가 검출되었다(도 2A 및 B 참조).

[0443] **실시예 4. 항체 선택**

[0444] 실시예 3에서 얻은 히트를 (당업계에 공지된 표준 방법을 사용하여) 시퀀싱하였다. VH 및 VL CDR3의 독특한 조합을 나타내는 130개의 고유한 클론이 확인되었다. 상기 130개의 고유한 클론 중, 125개는 고유한 VH CDR3을 나타내고 109개는 고유한 VL CDR3을 나타내었다.

[0445] 고유한 클론을 재배열하고 특이성을 ELISA(DELFI A)로 분석하였다. TRDV1(L1, L2, L3, F1, F2, F3)에 결합하지만 TRDV2(L4)에는 결합하지 않는 94개의 독특한 인간 scFv 결합체의 패널이 선택에서 확인되었다.

[0446] 앞으로 클론을 선택하는 데 도움이 되도록 선택한 바인더의 친화도 순위가 포함되었다. 많은 수의 결합체가 25~100 nM 비오틴화 항원과 반응하여 나노몰 범위의 친화성을 보였다. 소수의 결합체는 5 nM 항원과 강한 반응을 보였으며, 이는 한 자리 나노몰 친화도가 가능함을 나타낸다. 일부 결합체는 100 nM 항원과 반응하지 않았으며 이는 마이크로몰 범위의 친화성을 나타낸다.

[0447] IgG 전환을 진행하기 위한 클론을 선택하기 위하여, 가능한 한 많은 생식계 계통(gemline lineages)과 다양한 CDR3을 포함하는 것을 목표로 하였다. 또한, 글리코실화, 인테그린 결합 부위, CD11c/CD18 결합 부위, 짝을 이루지 않은 시스테인과 같은 서열 가능성을 피했다. 이 밖에도 다양한 친화력을 포함하였다.

[0448] 다른 공여자로부터 얻은 피부 유래 $\gamma \delta$ T 세포를 사용하여 선택된 클론을 자연적인 세포-표면 발현 $\gamma \delta$ TCR에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다. IgG로 전환되어지도록 선택된 클론을 표 2에 나타내었다.

[0449] 표 2. IgG 전환을 위한 DV1 결합제

Clone ID	Heavy CDR1	서열 번호	Heavy CDR2	서열 번호	Heavy CDR3	서열 번호	Light CDR1	서열 번호	Light CDR2	서열	Light CDR3	서열 번호	100 nM L1
1245_P01_E07	GFTFSDYY	38	ISSSGSTI	26	VDYADAFDI	2	QSIGTY	50	VAS	A1	QASVSTLLT	14	162591
1252_P01_C08	GFTVSSNY	39	IYSGGST	27	PIELGAFDI	3	NIGSQS	51	YDS	A2	QWMDSSSDHVV	15	1977
1245_P02_G04	GDSVSSKSAA	40	TYRRSKWST	28	TWSGYVDV	4	QDINDW	52	DAS	A3	QASVSTPQVT	16	5896
1245_P01_B07	GFTFSDYY	41	ISSSGSTI	29	ENYLNAFDI	5	QSLSNY	53	AAS	A4	QASVSTPLT	17	64271
1251_P02_C05	GFTFSSYA	42	ISGGGGTT	30	DSGVAFDI	6	QNIRTW	54	DAS	A5	QQFKRYPPPT	18	65269
1141_P01_E01	GYSFYSYW	43	IYPGSDT	31	HQVDTRIADY	7	RSDVGGVNY	55	EVS	A6	SSYTSITLV	19	136780
1139_P01_E04	GDSVSSNSAA	44	TYRRSKWYN	32	SWNDAFDI	8	QSISTW	56	DAS	A7	QASVSTPLT	20	23786
1245_P02_F07	GDSVSSNSAA	45	TYRRSKWYN	33	DYYSMDV	9	QSISSW	57	DAS	A8	QQSHSHPT	21	10450
1245_P01_G06	GFTFSDYY	46	ISSSGSTI	34	HSWDAFDV	10	QSISSY	58	AAS	A9	QASVSTPDT	22	22474
1245_P01_G09	GDSVSSNSAA	47	TYYGSKWYN	35	DYYSMDV	11	QSISTW	59	DAS	A10	QASVSTPVT	23	18430
1138_P01_B09	GFTFSDYY	48	ISSSGSTI	36	HSWDAFDI	12	QDISNY	60	DAS	A11	QASVSTPLT	24	29193
1251_P02_G10	GFTFSDYY	49	ISSSGSTI	37	HSWDAFDI	13	QSISSH	61	AAS	A12	QASVSTLLT	25	17053

[0450]

[0451] 실시예 5: 항체 SPR 분석

[0452] 준비된 IgG 항체를 γ δ 세포 결합 분석을 통해, 추가적인 기능적 및 생물리학적 특징화를 위한 5개의 최상의 결합제를 선택하였다. 평형 해리 상수(K_D)를 결정하기 위하여 SPR 분석을 실시하였다. 검정 항체와 분석물의 상호작용의 센서그램을 (가능한 경우) 정상 상태 핏(fit)과 함께 도 3에 도시하였다. TS8.2에 대해서는 칩에 포획된 80RU의 IgG와의 결합이 검출되지 않았다. 결과는 표 3에 요약하였다.

[0453] 표 3. IgG 포획 결과

분석물	클론 ID	K _D (nM)	K _D (M)
L1(DV1-GV4)	1245_P01_E07	12.4	1.24e-08
L1(DV1-GV4)	1252_P01_C08	100	1.00e-07
L1(DV1-GV4)	1245_P02_G04	126	1.26e-07
L1(DV1-GV4)	1245_P01_B07	341	3.41e-07
L1(DV1-GV4)	1251_P02_C05	1967*	1.97e-06
L1(DV1-GV4)	1139_P01_E04	251	2.51e-07
L1(DV1-GV4)	1245_P02_F07	193	1.93e-07
L1(DV1-GV4)	1245_P01_G06	264	2.64e-07
L1(DV1-GV4)	1245_P01_G09	208	2.08e-07
L1(DV1-GV4)	1138_P01_B09	290	2.90e-07
L1(DV1-GV4)	1251_P02_G10	829	8.29e-07
L1(DV1-GV4)	TS8.2 (상업용 항-Vδ1 항체)	44	4.40e-08

[0454] *1252_P02_C05의 바인딩이 포화에 도달하지 않아, 데이터를 외삽하였다.

[0455] 실시예 6: TCR 결합 분석

[0456] 본 발명자들은 선택된 항체의 기능적 특징화에 사용되는 여러 분석법을 설계하였다. 첫 번째 분석은 항체 결합 시 $\gamma\delta$ TCR의 하향조절을 측정함으로써 $\gamma\delta$ TCR 결합을 평가하였다. 선택된 항체를 양성 대조군으로 사용된 상용의 항-CD3 및 항-Vδ1 항체에 대해 검정하거나, (1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 및 1245_P01_에 대해서는) 양성 대조군으로 1252_P01_C08에 대해 검정하였다. 상용의 항-pan $\gamma\delta$ 는 가변 사슬에 관계없이 모든 $\gamma\delta$ T 세포를 인식하는 pan $\gamma\delta$ 항체이기 때문에 다른 작용 방식을 가질 가능성이 있으므로, 음성 대조군으로 사용하였다.

[0457] 세 개의 다른 공여자 시료(94%, 80% 및 57% 순도의 시료)에서 수득한 피부-유래 $\gamma\delta$ T 세포를 사용하여 분석을 수행하였다. 결과는 도 4에 나타내었다. EC50 값은 하기 표 4에 요약하였다.

[0458] 실시예 7: T 세포 탈과립 분석

[0459] 두 번째 분석은 $\gamma\delta$ T 세포의 탈과립을 평가하였다. $\gamma\delta$ T 세포는 퍼포린-그랜자임 매개 활성화에 의한 세포 자멸사(apoptosis)에 의해 표적 세포 사멸을 매개할 것으로 생각된다. $\gamma\delta$ T 세포의 세포질 내의 용해 과립(lytic granule)은 T 세포 활성화 시 표적 세포로 방출될 수 있다. 따라서 CD107a에 대한 항체로 표적 세포를 표지하고, 유세포 분석에 의한 발현을 측정하여 탈과립된 $\gamma\delta$ T 세포를 식별할 수 있다.

[0460] 실시예 6에서와 같이, 선택된 항체를 양성 대조군으로 상용의 항-CD3 및 항-Vδ1 항체에 대해 검정하거나 또는 (1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 및 1245_P01_에 대해서는) 양성 대조군으로 1252_P01_C08에 대해 검정하였다. IgG2a, IgG1 및 D1.3 항체를 음성 대조군으로 사용하였다. 세 개의 다른 공여자 시료(94%, 80% 및 57% 순도의 시료)에서 수득한 피부-유래 $\gamma\delta$ T 세포를 사용하여 분석을 수행하였다. 결과는 도 5에 나타내었다. EC50 값은 하기 표 4에 요약하였다.

[0461] 실시예 8: 사멸 분석

[0462] 세 번째 분석은 선택된 항체로 활성화된 $\gamma\delta$ T 세포의 표적 세포 사멸 능력을 평가하였다.

[0463] 실시예 6에서와 같이, 선택된 항체를 양성 대조군으로 상용의 항-CD3 및 항-Vδ1 항체에 대해 검정하거나 또는 (1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 및 1245_P01_에 대해서는) 양성 대조군으로 1252_P01_C08에 대해 검정하였으며, 항-pan $\gamma\delta$ 를 음성 대조군으로, IgG2a, IgG1 및 D1.3 항체를 이소형 대조군으로 사용하였다. 두 명의 공여자로부터 얻은 피부-유래 $\gamma\delta$ T 세포(94% 및 80% 순도)를 사용하여 분석을 실시하였으며, 결과는 도 6에 나타내었다.

[0464] 실시예 6-8에서 검정된 3가지 기능적 분석의 결과를 표 4에 요약하였다.

[0465] 표 4. 기능 분석에서 얻은 결과 요약

클론 ID	TCR 하향조절 (EC50 µg/ml - 3 공여자)	T cell 탈과립 (EC50 µg/ml - 3 공여자)	사멸 분석 (EC50 µg/ml - 2 또는 3 공여자)
1245_P01_E07	0.04-0.11	0.007-0.004	0.06
1252_P01_C08	0.02-0.03	0.001-0.0006	0.02
1245_P02_G04	0.01-0.05	0.002	0.10
1245_P01_B07	Positive; 0.35 (1 donor only)	Positive; 0.1 (1 donor only)	0.13
1251_P02_C05	Positive; N/D	Positive; N/D	N/D*
1139_P01_E04	0.027-0.057	0.005	0.005-0.019
1245_P02_F07	0.032-0.043	0.001-0.002	0.006-0.018
1245_P01_G06	0.042-0.055	0.001	0.007-0.051
1245_P01_G09	0.029-0.040	0.001	0.003-0.008
1138_P01_B09	0.078-0.130	N/D	0.055-0.199
1251_P02_G10	0.849; N/D	N/D	N/D**
OKT3 (항-CD3 항체)	0.03-0.04	0.001-0.008	0.05
TS8.2 (항-iVδ1 항체)	0.48-0.8	0.07-0.16	N/D*

N/D: 결정할 수 없음; N/D*: 결정할 수 없음, 적정 곡선이 안정기(plateau)에 도달하지 않음; N/D**: 감소된 사멸 프로파일, EC50이 설정되지 않음.

[0466]

[0467] 실시예 9: 에피토프 매핑

[0468]

고분해능으로 항원/항체 복합체의 에피토프를 결정하기 위하여, 단백질 복합체를 중수소화된 가교결합제와 함께 배양하고 다중 효소 절단을 수행하였다. 가교된 펩타이드를 농축한 후 시료를 고분해능 질량분석기(nLC -LTQ-Orbitrap MS)로 분석하고, 생성된 데이터를 XQuest(버전 2.0) 및 Stavrox(버전 3.6) 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0469]

중수소화된 d0d12와 L1(DV1-GV4)/1245_P01_E07 단백질 복합체의 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 썬모리신 단백질 분해 후, nLC-orbitrap MS/MS 분석으로 L1(DV1-GV4)와 항체 1245_P01_E07 사이에 가교된 13개의 펩타이드를 검출하였다. 결과는 도 7에 도시하였다.

[0470]

중수소화된 d0d12와 L1(DV1-GV4)/1252_P01_C08 단백질 복합체의 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 썬모리신 단백질 분해 후, nLC-orbitrap MS/MS 분석으로 L1(DV1-GV4)와 항체 1252_P01_C08 사이에 가교된 5개의 펩타이드를 검출하였다. 결과는 도 8에 도시하였다.

[0471]

중수소화된 d0d12와 L1(DV1-GV4)/1245_P02_G04 단백질 복합체의 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 썬모리신 단백질 분해 후, nLC-orbitrap MS/MS 분석으로 L1(DV1-GV4)와 항체 1245_P02_G04 사이에 가교된 20개의 펩타이드를 검출하였다. 결과는 도 9에 도시하였다.

[0472]

중수소화된 d0d12와 L1(DV1-GV4)/1251_P02_C05 단백질 복합체의 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 썬모리신 단백질 분해 후, nLC-orbitrap MS/MS 분석으로 L1(DV1-GV4)와 항체 1251_P02_C05 사이에 가교된 5개의 펩타이드를 검출하였다. 결과는 도 10에 도시하였다.

[0473]

다른 항체인 클론 ID 1141_P01_E01과의 에피토프 결합도 검정하였다. 중수소화된 d0d12와 L1(DV1-GV4)/1141_P01_E01 단백질 복합체의 트립신, 키모트립신, Asp-N, 엘라스타제 및 썬모리신 단백질 분해 후, nLC-orbitrap MS/MS 분석으로 L1(DV1-GV4)와 항체 1141_P01_E01 사이에 가교된 20개의 펩타이드를 검출하였다. 결과는 도 11에 도시하였다.

[0474] 에피토프 매핑 결과의 요약은 표 5에 제시하였다.

[0475] 표 5. 항원/항체 복합체에 대한 에피토프 매핑 결과

클론 ID	에피토프 매핑, 서열번호 1의 아미노산 넘버링
1245_P01_E07	5, 9, 16, 20, 62, 64, 72, 77
1252_P01_C08	50, 53, 59, 62, 64
1245_P02_G04	37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73, 77
1251_P02_C05	59, 60, 68, 72
1141_P01_E01	3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68, 69

[0476]

[0477] 실시예 10: V δ 1 T 세포의 증식

[0478] 단리된 $\gamma\delta$ T 세포의 증식을 선택된 항체 및 비교 항체의 존재 하에 조사하였다. 비교 항체는 다음으로부터 선택하였다: 양성 대조군으로 OKT3 항-CD3 항체, 음성 대조군으로 항체 없음 또는 이소형 대조군으로 IgG1 항체. 시판되는 항-V δ 1 항체인 TS-1 및 TS8.2 역시 비교를 위해 검정하였다.

[0479] 실험 1:

[0480] 실시예 1의 혈액-유래 $\gamma\delta$ T 세포에 대한 " $\gamma\delta$ T 세포 준비"에 기재한 바와 같이, 초기 조사는 완전 Optimizer 배지 및 사이토카인과 함께 70,000개 세포/웰로 접종하여 수행하였다. 선택된 항체와 비교 항체를 4.2 ng/ml 내지 420 ng/ml 범위의 다양한 농도에서 검정하였다. 본 실험은 플라스틱에 대한 항체의 결합/고정이 허용되는 조직 배양 플레이트를 사용하여 수행하였다.

[0481] 7, 14 및 18일째에 세포를 수집하고, 세포 계수기(NC250, ChemoMetec)를 사용하여 총 세포 수를 결정하였다. 결과를 도 12에 도시하였다. V δ 1 T 세포의 세포 생존성 또한 각 수집물에서 측정하였으며, 모든 항체는 실험 전반에 걸쳐 세포 생존성을 유지하는 것으로 나타났다(데이터 미도시). 18일째에, V δ 1 T 세포의 백분율, 세포 수 및 배수 변화 역시 분석하였다. 결과를 도 13에 도시하였다.

[0482] 도 12에서 확인할 수 있듯이, 항체가 있는 배양물에서 생산된 세포의 총 수는 배양기간 전체에 걸쳐 점차 증가하였으며 상용 항-V δ 1 항체와 비슷하거나 더 우수하였다. 18일째에, 검정된 최대 농도에서 1245_P02_G04("G04"), 1245_P01_E07("E07"), 1245_P01_B07("B07") 및 1252_P01_C08("C08") 항체의 존재하에 V δ 1 양성 세포의 백분율은 OKT3, TS-1 또는 TS8.2 대조군 항체가 존재하는 배양물에서보다 더 높았다(도 13A 참조).

[0483] 실험 2:

[0484] 실시예 1의 " $\gamma\delta$ T 세포 준비"에 기재된 바와 같이 사이토카인이 있는 배양 용기에서 단리된 세포에 대한 후속 실험을 수행하였다. 실험 1과 비교하여, 표면이 항체 결합/고정화를 용이하지 않는 상이한 배양 용기를 사용하였다. 선택된 항체와 비교 항체를 42 pg/ml 내지 42 ng/ml 범위의 다양한 농도에서 검정하였다. 실험 2 동안, 3회 반복실험에서 결과를 얻었다.

[0485] 7, 11, 14 및 17일째에 세포를 수집하고 이전과 마찬가지로 세포 계수기를 사용하여 총 세포 수를 결정하였다. 상기 결과를 도 14에 도시하였다. 17일째, V δ 1 T 세포의 백분율, 세포 수 및 배수 변화 역시 분석하였다. 결과를 도 15에 도시하였다.

[0486] 비-V δ 1 세포를 포함하는 세포 조성 또한 실험 2 동안 측정하였다. 17일째 세포를 수집하고 V δ 1, V δ 2 및 $\alpha\beta$ TCR의 표면 발현에 대해 유세포 분석에 의해 분석하였다. 각 배양물에서 각 세포 유형의 비율을 도 16에 그래프로 도시하고 백분율 값은 표 6에 제시하였다.

[0487] 표 6. 17일째의 세포 조성 - 각 서브세트의 살아있는 세포의 백분율

	$\alpha\beta$ - $\gamma\delta$ -	V δ 1	V δ 2	비V δ 1/V δ 2	$\alpha\beta$
no AB	63.00	18.17	0.86	7.10	0.37
OKT-3	25.63	50.43	0.25	20.13	1.13
IgG1	65.77	15.59	1.11	6.91	0.42
TS8.2 42ng/ml	30.60	53.57	3.59	7.46	0.14
TS-1 42ng/ml	18.77	65.90	0.91	9.51	0.12
C08 42ng/ml	0.79	96.43	0.08	2.51	0.05
C08 4.2ng/ml	1.91	94.67	0.18	2.63	0.05
C08 420pg/ml	8.47	80.57	0.28	8.42	0.04
C08 42pg/ml	35.97	25.93	3.04	19.50	0.31
B07 42ng/ml	0.94	95.57	0.46	2.73	0.05
B07 4.2ng/ml	1.79	94.10	0.40	3.28	0.01
B07 420pg/ml	3.08	91.80	0.29	3.94	0.02
B07 42pg/ml	17.93	62.90	0.85	9.16	0.07
E07 42ng/ml	2.29	85.13	0.19	11.65	0.04
E07 4.2ng/ml	2.15	91.23	0.13	5.77	0.04
E07 420pg/ml	9.25	73.90	0.42	13.05	0.02
E07 42pg/ml	49.23	18.67	2.17	7.70	0.43
G04 42ng/ml	1.90	88.53	0.47	8.09	0.05
G04 4.2ng/ml	4.25	89.67	0.93	3.98	0.02
G04 420pg/ml	25.97	50.60	1.45	12.72	0.11
G04 42pg/ml	44.00	13.77	2.33	26.30	0.32
C05 42ng/ml	25.00	42.03	3.75	13.67	1.32
C05 4.2ng/ml	46.87	22.03	2.58	16.46	0.38
C05 420pg/ml	33.53	44.60	2.23	11.13	0.22
C05 42pg/ml	36.83	25.23	6.16	18.00	0.30

[0488]

[0489] 이들 결과로부터 알 수 있는 바와 같이, OKT3, TS-1 또는 TS8.2 대조군과 비교하여 B07, C08, E07 및 G04가 존재하는 배양물에서 V δ 1 양성 세포의 비율이 더 컸다. 따라서, 검정된 항체는 배양물에 낮은 농도로 존재하는 경우에도 시판되는 항체보다 더 효율적으로 V δ 1 양성 세포를 생산 및 증식하였다.

[0490] 자연 살해(NK) 세포의 존재를 확인하기 위한 CD3-CD56+ 및 CD27을 발현하는 V δ 1 T 세포(즉, CD27+)를 비롯한 추가 세포 마커에 대해서도 실험 2의 17일째의 세포를 분석하였다. 결과는 표 7에 요약하였다.

[0491] 표 7. 17일째의 세포 조성 - NK 및 CD27+ 세포의 백분율

	% CD56+CD3-		Vδ1의 %CD27+	
	평균	SEM	평균	SEM
no AB	66.33	8.49	92.43	1.58
OKT-3	7.90	1.04	99.03	0.14
IgG1	70.67	6.41	87.87	0.81
TS8.2 42ng/ml	31.63	1.99	66.73	5.55
TS-1 42ng/ml	22.97	1.75	94.40	1.14
C08 42ng/ml	1.00	0.15	98.17	0.31
C08 4.2ng/ml	2.06	0.07	95.07	1.23
C08 420pg/ml	8.63	1.64	88.43	3.65
C08 42pg/ml	45.10	3.44	91.50	2.50
B07 42ng/ml	1.40	0.39	95.47	1.37
B07 4.2ng/ml	1.70	0.16	96.70	0.43
B07 420pg/ml	3.47	0.38	95.17	0.86
B07 42pg/ml	22.03	4.66	88.03	3.00
E07 42ng/ml	2.59	0.93	92.27	2.10
E07 4.2ng/ml	1.98	0.09	95.77	0.52
E07 420pg/ml	8.72	1.33	92.43	0.14
E07 42pg/ml	67.73	1.23	93.60	1.16
G04 42ng/ml	2.20	0.32	93.80	0.36
G04 4.2ng/ml	3.53	0.51	91.63	1.80
G04 420pg/ml	30.53	5.00	81.37	3.11
G04 42pg/ml	51.13	8.90	94.20	0.93
C05 42ng/ml	37.17	6.53	93.80	0.87
C05 4.2ng/ml	52.27	8.16	85.40	4.46
C05 420pg/ml	37.93	1.57	90.83	2.01
C05 42pg/ml	43.40	8.64	92.17	2.02

[0492] SEM: 평균의 표준 오차

[0493] 실시예 11: Vδ1 T 세포의 기능성

[0494] 선택된 항체의 존재 하에 증식된 Vδ1 T 세포는 CDR3 영역의 다클론성 레퍼토리를 보유하며, SYTOX-유동 사멸 분석을 사용하여 기능성에 대해 검정하였다. 상기 결과는 10:1 작동체 대 표적(E:T) 비율의 세포를 사용하여 실험 1 동안 14일째에 수득한 세포(도 17A) 및 1:1 및 10:1 E:T 비율의 세포를 사용하여 실험 2 동안 17일째에 수득한 세포(동결-해동 후)에 대해 나타내었다(도 17B).

[0495] 도 17에서 확인할 수 있듯이, 모든 항체의 존재 하에 증식된 Vδ1 양성 세포는 표적 세포를 효과적으로 용해시켜, 세포를 동결 및 해동한 후에도 기능적임을 나타내었다.

[0496] 실시예 12: 저장 후 세포의 기능성

[0497] 동결 및 이후 해동의 저장 단계 후 세포의 기능성도 조사하였다. 실험 2의 17일째 배양물로부터 세포의 일부를 제거하고 동결시켰다. 이후 세포를 해동하고 IL-15와 함께 배양액에서 추가로 증식시켰다. 도 18은 동결 전에 B07, C08, E07, G04 또는 OKT-3 항체와 접촉된 배양물에 대해, 동결-해동 후 세포를 배양한 7일 후의 총 세포 수를 나타낸다. 모든 배양물은 저장 후 증식할 수 있음을 보여주었다. 배양은 42일까지 계속되었고 이 기간 동안 총 세포 수를 모니터링하였다(결과는 도 19에 도시됨). 총 세포 수는 선택된 항체에 미리 노출된 배양물

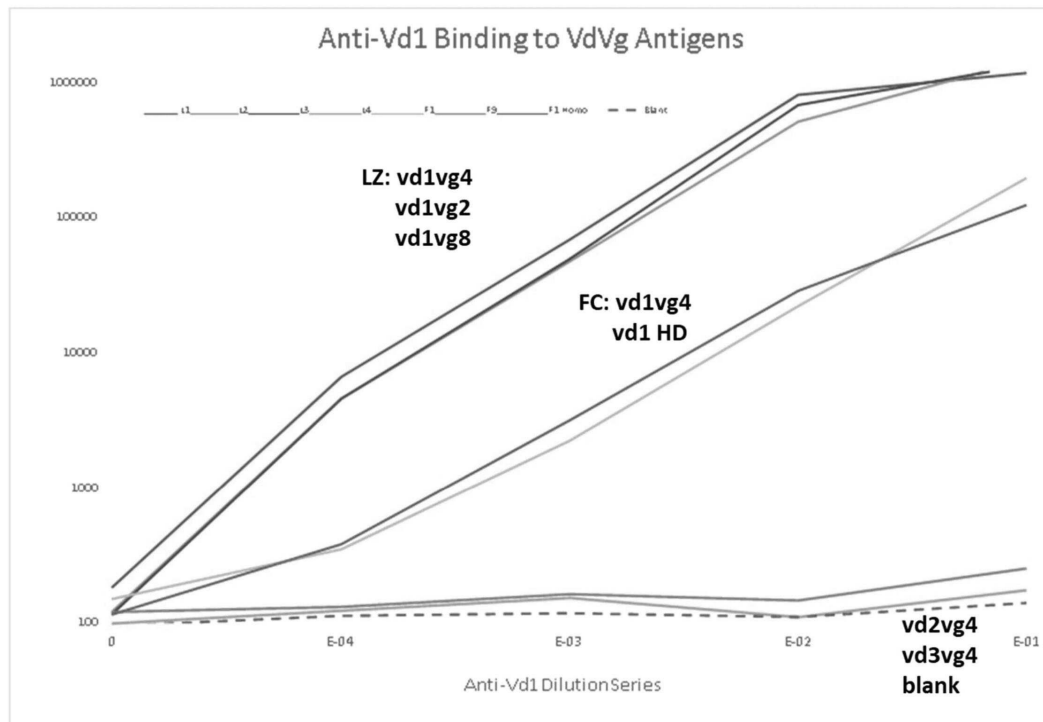
에서 유지되거나 또는 증가하였다.

[0498] **실시예 13: TIL에 면역 세포의 조절 및 증식을 부여하는 항-V δ 1 항체**

[0499] 인간 종양 침윤 림프구(TIL)의 조절 및 증식을 부여하는 항-V δ 1 항체를 조사하기 위한 연구가 수행되었다. 이러한 연구를 위해, 인간 신세포 암종(RCC) 종양 생검을 신선하게 배송하여 수령 즉시 처리하였다. 구체적으로, 상기 조직을 $\sim 2 \text{ mm}^2$ 으로 잘게 썰었다. 최대 1g의 조직을 4.7 mL RPMI 및 관련 세포 표면 분자의 절단을 방지하기 위해 효소 R을 0.2x의 농도로 사용한 것을 제외하고는 제조업체에서 권장하는 농도의 Miltenyi's Tumor Dissociation Kit의 효소와 함께 각각 Miltenyi C 튜브에 넣었다. C-튜브를 히터가 있는 gentleMACS™ Octo Dissociator에 위치시켰다. 연성 종양의 해리를 위해 프로그램 37C_h_TDK_1이 선택하였다. 이후 소화물을 70 mM 필터를 통해 여과하여 단일 세포 현탁액을 생성하였다. 효소 활성을 잃게 하기 위해 10% FBS를 함유하는 RPMI를 소화물에 첨가하였다. 상기 세포를 RPMI/10% FBS로 2회 세척하고, 계수를 위해 재현탁하였다. 유래된 세포를 TC 웰(24-웰 G-REX, Wilson Wolf)에 웰당 2.5×10^6 으로 접종하였다. 이후 세포를 사이토카인과 함께 또는 없이, 또는 항체와 함께 또는 없이 18일 동안 배양하였다. 연구에 포함된 항체를 도 20에 요약하였다. 본 명세서에서 여기에는 OKT3(최대 50 ng/ml) 및 1252_P01_C08, 약칭 "C08"(최대 500 ng/ml)이 포함된다. 포함될 때, 이들 항체의 일시 첨가는 0, 7, 11 및 14일에 추가하였다. 상기 배양동안, 배지는 11일 및 14일째에 신선한 배지로 교체하였다. 0일 및 18일째에 유세포 분석을 실시하여 세포 수의 배수 변화 뿐 아니라 림프구의 표현형을 결정하였다. 세포는 먼저 살아있는 CD45+ 세포에 대해 게이트링하였다. 재조합 사이토카인이 포함된 암에는 하기와 같이 추가하였다. 0일: IL-4, IFN- γ , IL-21, IL-1 β . 7, 11, 14일째에 추가의 IL-15가 포함되었다. 7 및 14일째에 각각 추가의 IL-21 및 IFN- γ 가 포함되었다. 도 20(A)는 표시된 사이토카인 지지체(CK)가 있거나 없는 상태에서 C08 또는 OKT3의 존재 하에 18일 배양 이후 TIL V δ 1+ 세포의 배수 증가를 나타낸다. 상기 결과는 항체 또는 사이토카인 단독과 비교하여 사이토카인의 존재 하에 C08 또는 비교 OKT3 항체의 적용에 따른 TIL V δ 1+ 세포의 실질적인 배수 증가를 나타낸다. 도 20(B)는 수집 후 총 V δ 1 세포 수의 증가를 보여준다. 상기 결과는 항체 또는 사이토카인 단독과 비교하여 사이토카인의 존재 하에 C08 또는 비교 OKT3 항체와의 배양 후 TIL V δ 1+ 세포 수의 실질적인 증가를 보여준다. 도 20(C)는 세포의 유세포 분석에 사용되는 게이트링 전략의 예를 나타낸다. 살아있는 CD45+ 세포 집단으로부터 세포를 전방 및 측방 산란 특성(미도시)을 기반으로 림프구에 게이트링하였고, 이후 $\gamma \delta$ T 세포를 T 세포 수용체에 대한 염색에 의해 $\alpha \beta$ T 세포로부터 분리하였다. 마지막으로, 전체 $\gamma \delta$ T 세포 집단 내 V δ 1 세포의 비율을 결정하였다. 18일째에 대한 예시 데이터는 제시된 2가지 조건에 대해 나타내었다(+/-1252_P01_C08): 64.3% 세포가 CD45+이었으며, 이들 CD45+ 세포 중 53.1%가 $\gamma \delta$ +이고, $\gamma \delta$ 세포 중 89.7%가 V δ 1+였다. 도 20(D)는 수집물에서 TIL V δ 1+ 세포의 세포-표면 표현형 프로파일을 나타낸다. C08 항체로 배양한 후 더 높은 수준의 CD69가 관찰되었다. 도 20(E)는 수집물에서 살아있는 CD45-양성 게이트 내의 TIL $\gamma \delta$ -음성, CD8-양성 림프구 분획의 분석을 나타낸다. 요약하면, 조합된 결과는 TIL 집단에 대해 본 명세서에 기재된 본 발명의 항-V δ 1 항체에 의해 부여된 조절 효과를 부각시킨다.

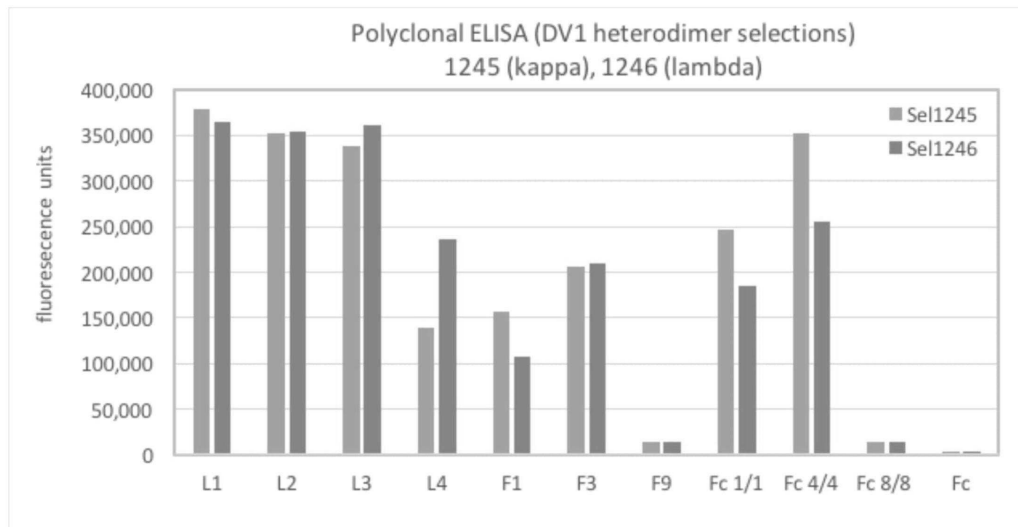
도면

도면1

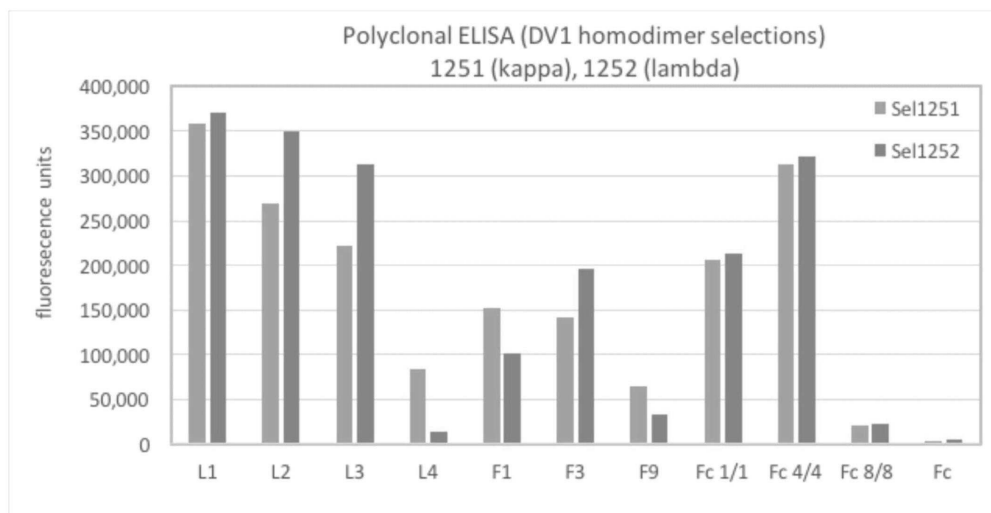


도면2

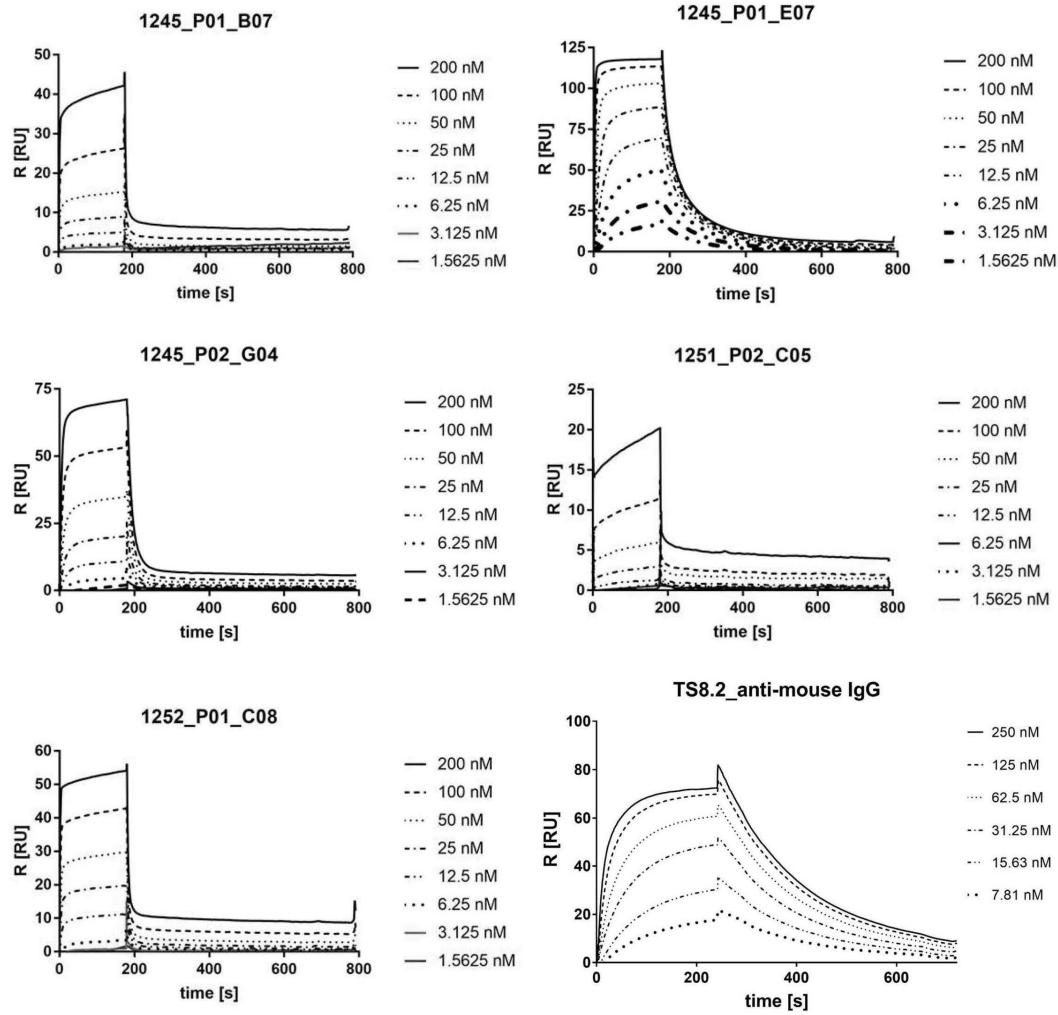
A



B

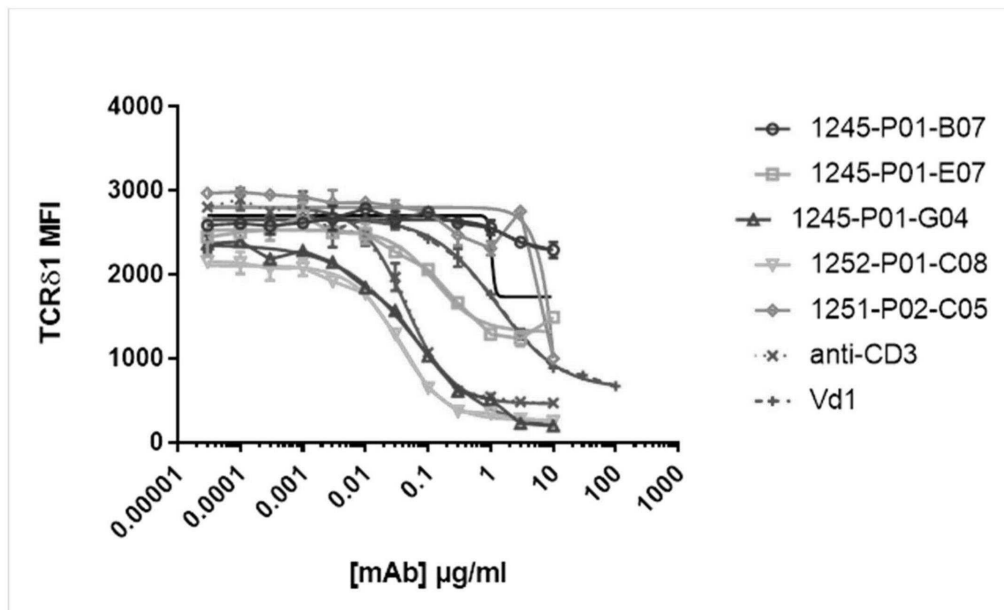


도면3

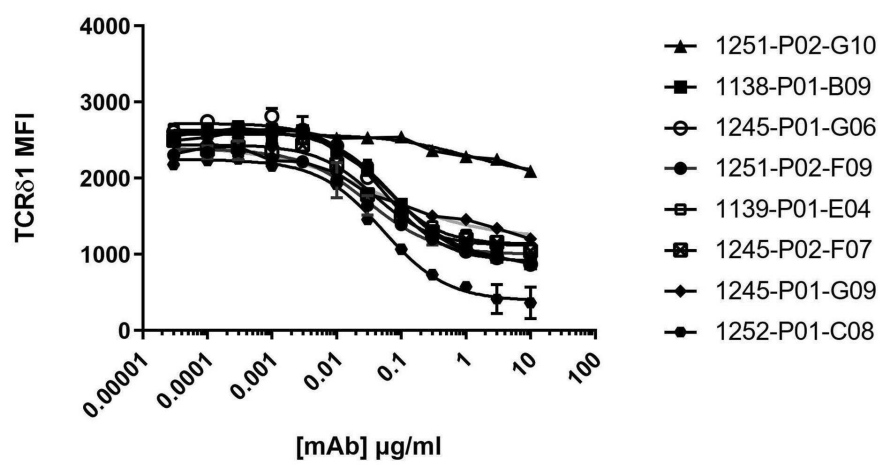


도면4

A)

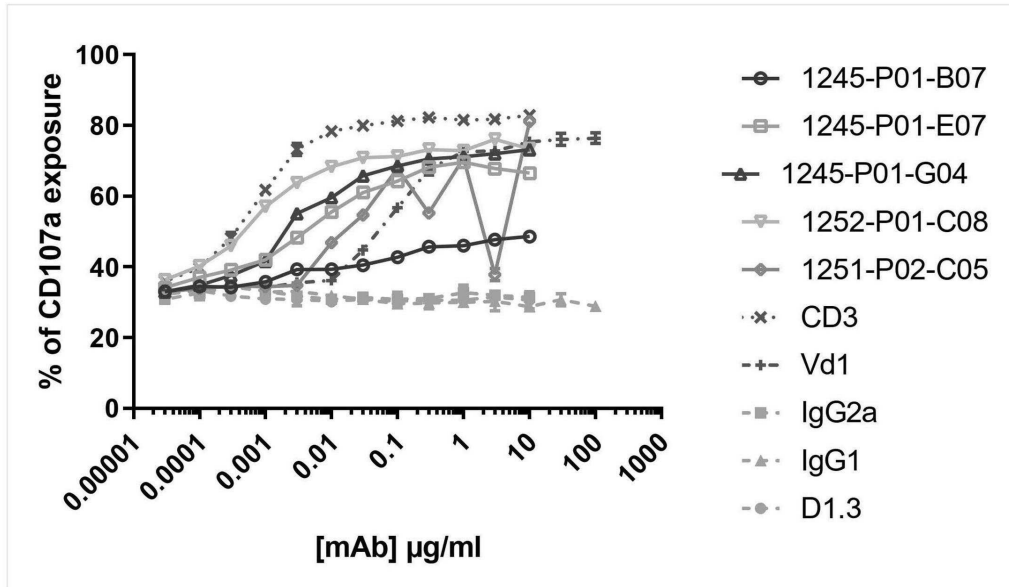


B)

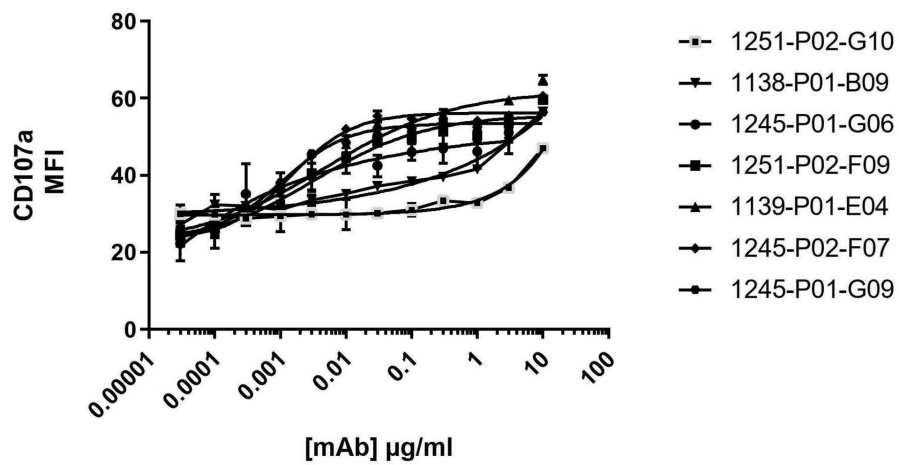


도면5

A)

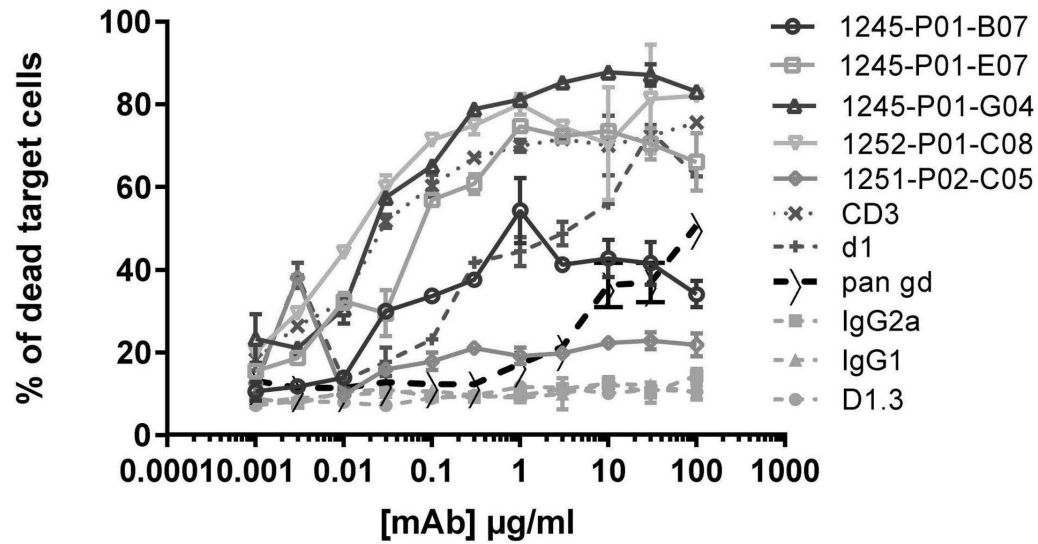


B)

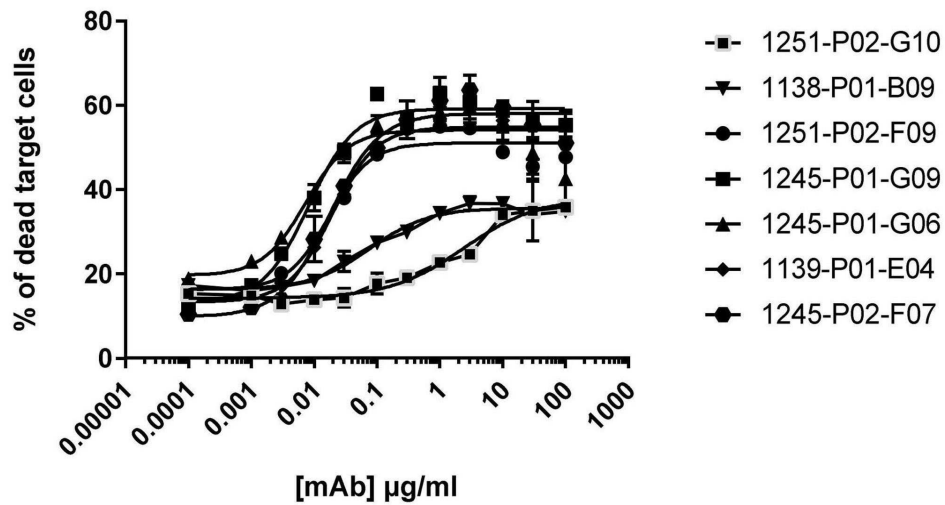


도면6

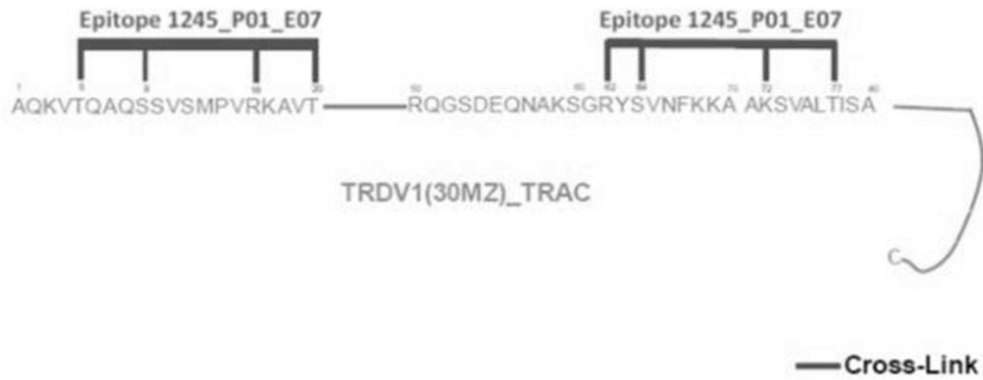
A)



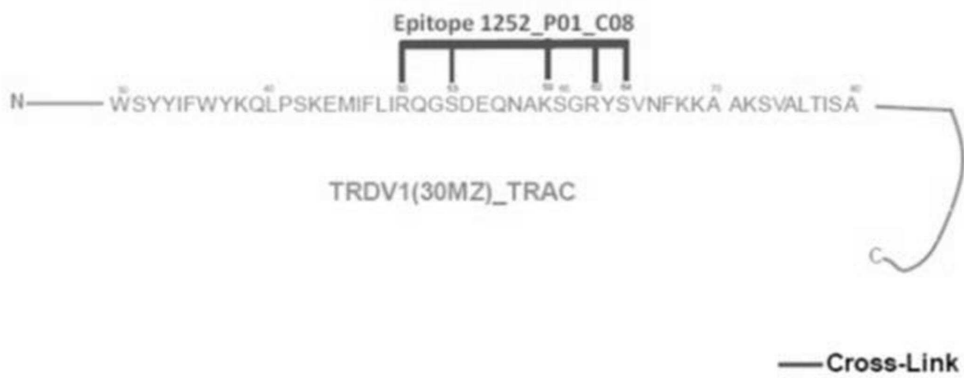
B)



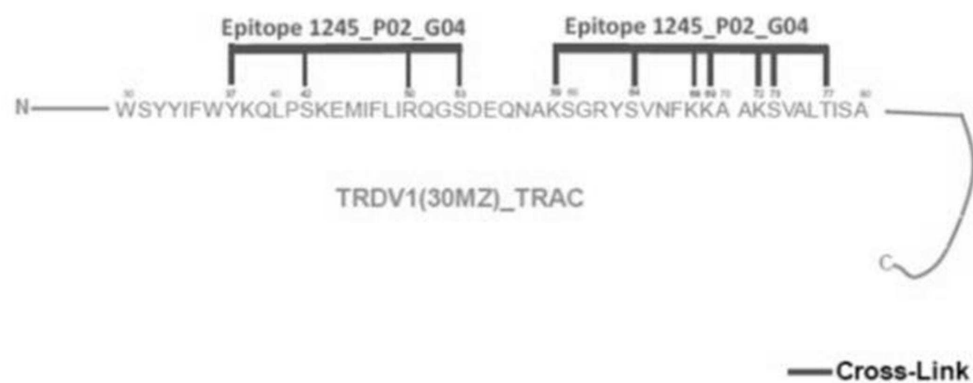
도면7



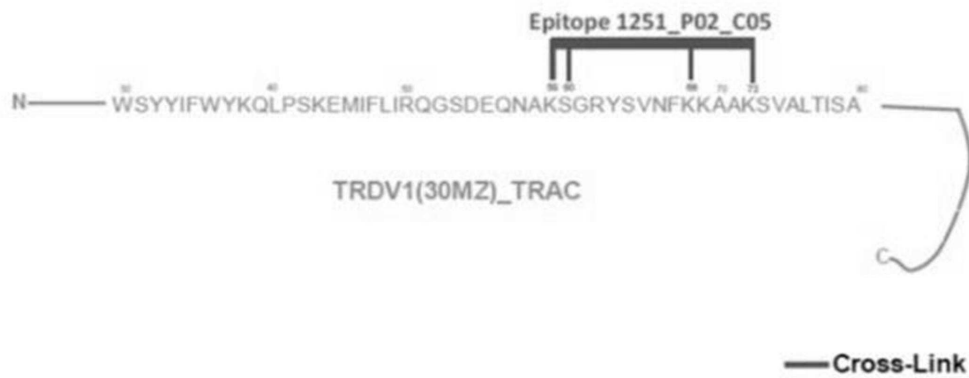
도면8



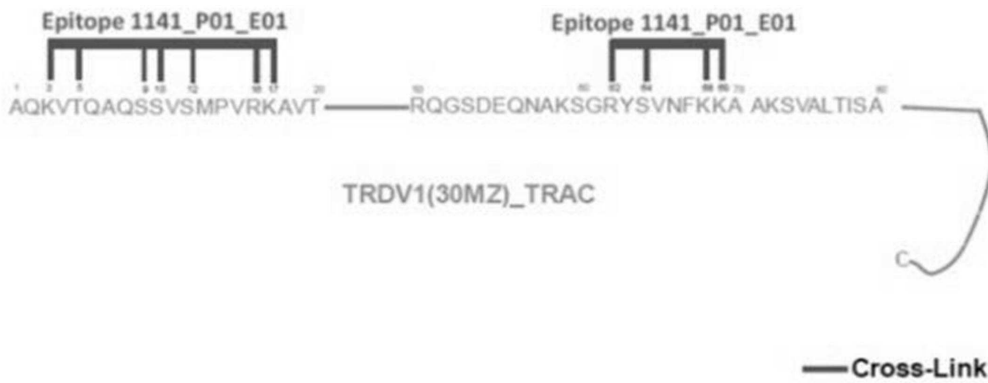
도면9



도면10

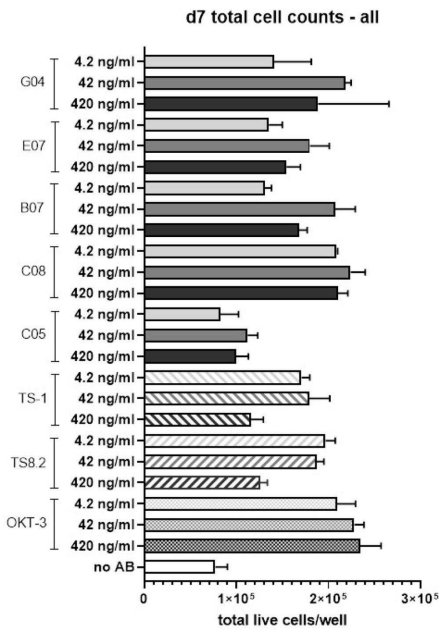


도면11

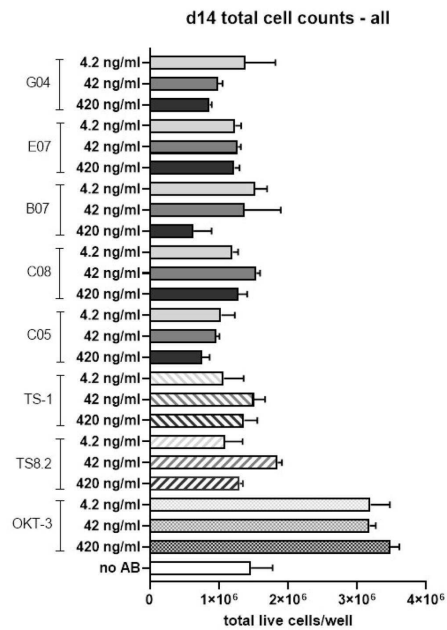


도면12

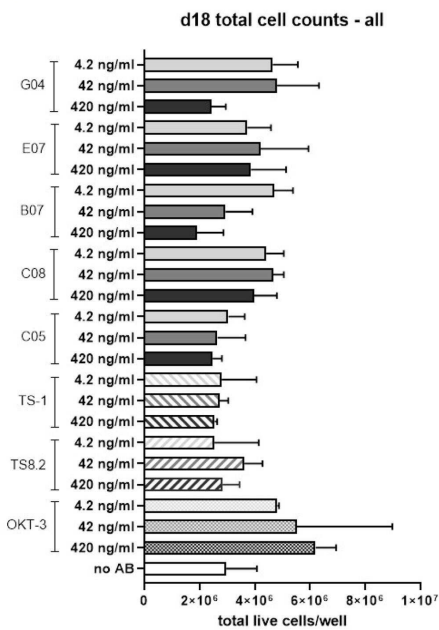
A)



B)

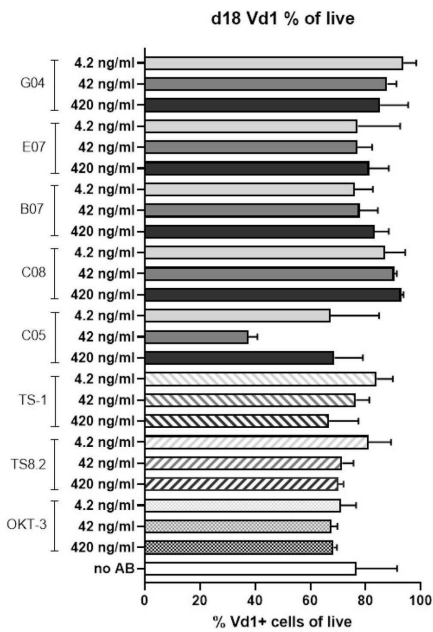


C)

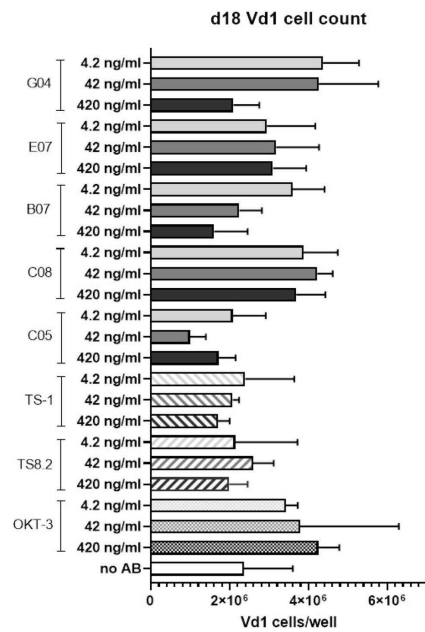


도면13

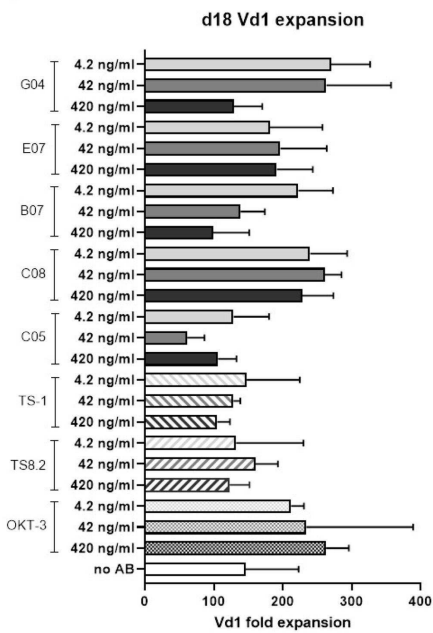
A)



B)

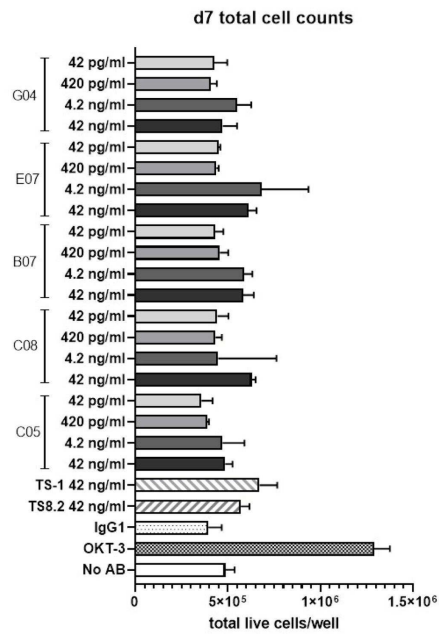


C)

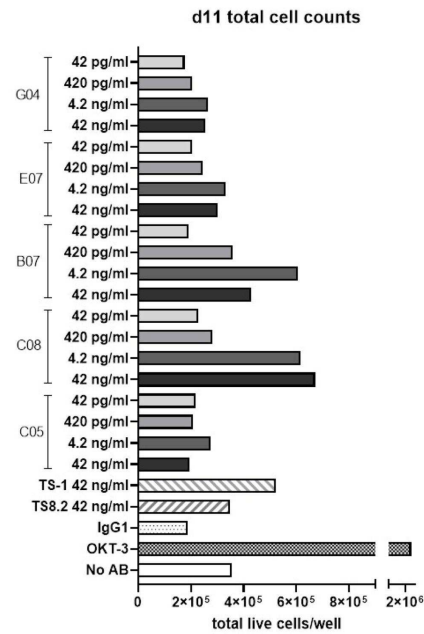


도면14

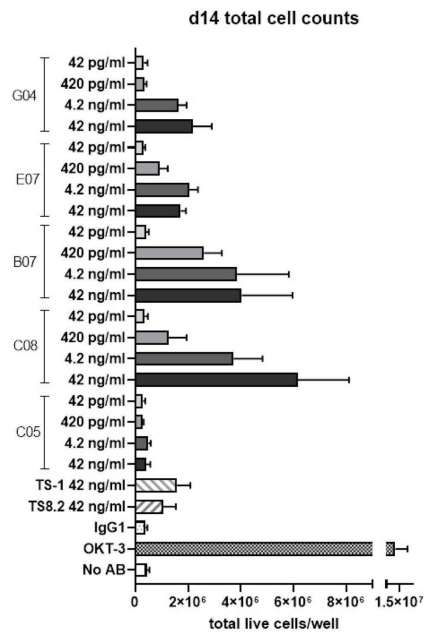
A)



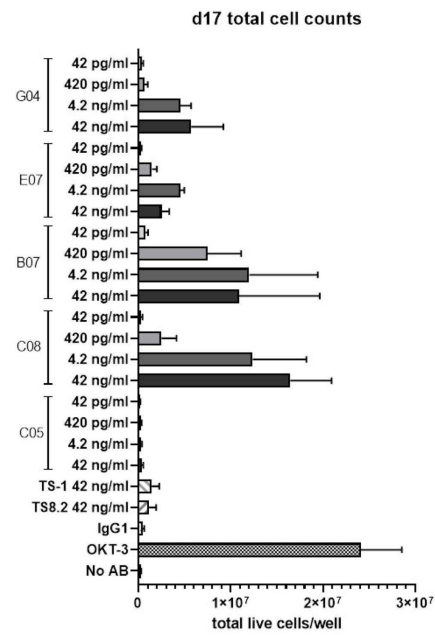
B)



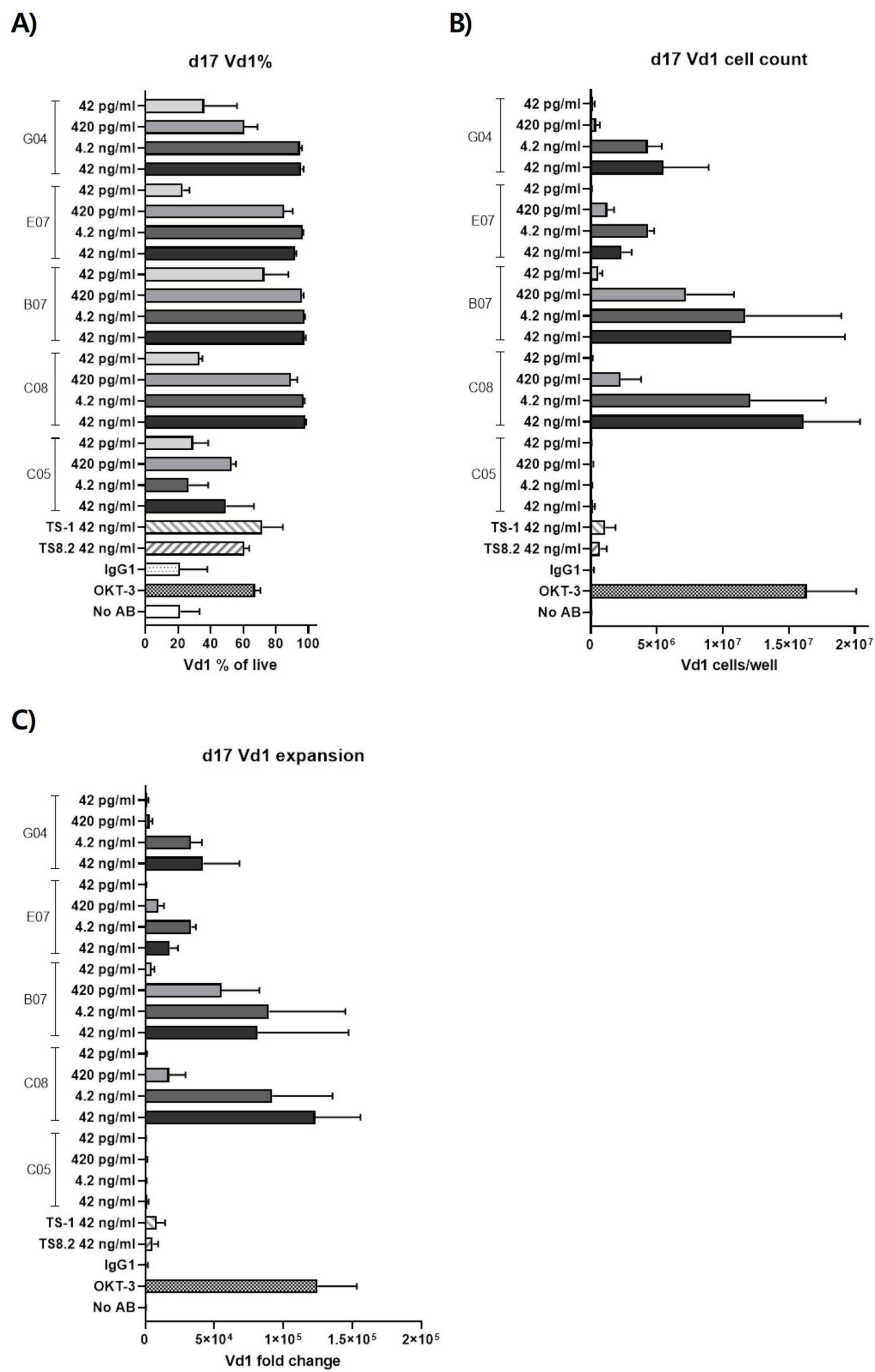
C)



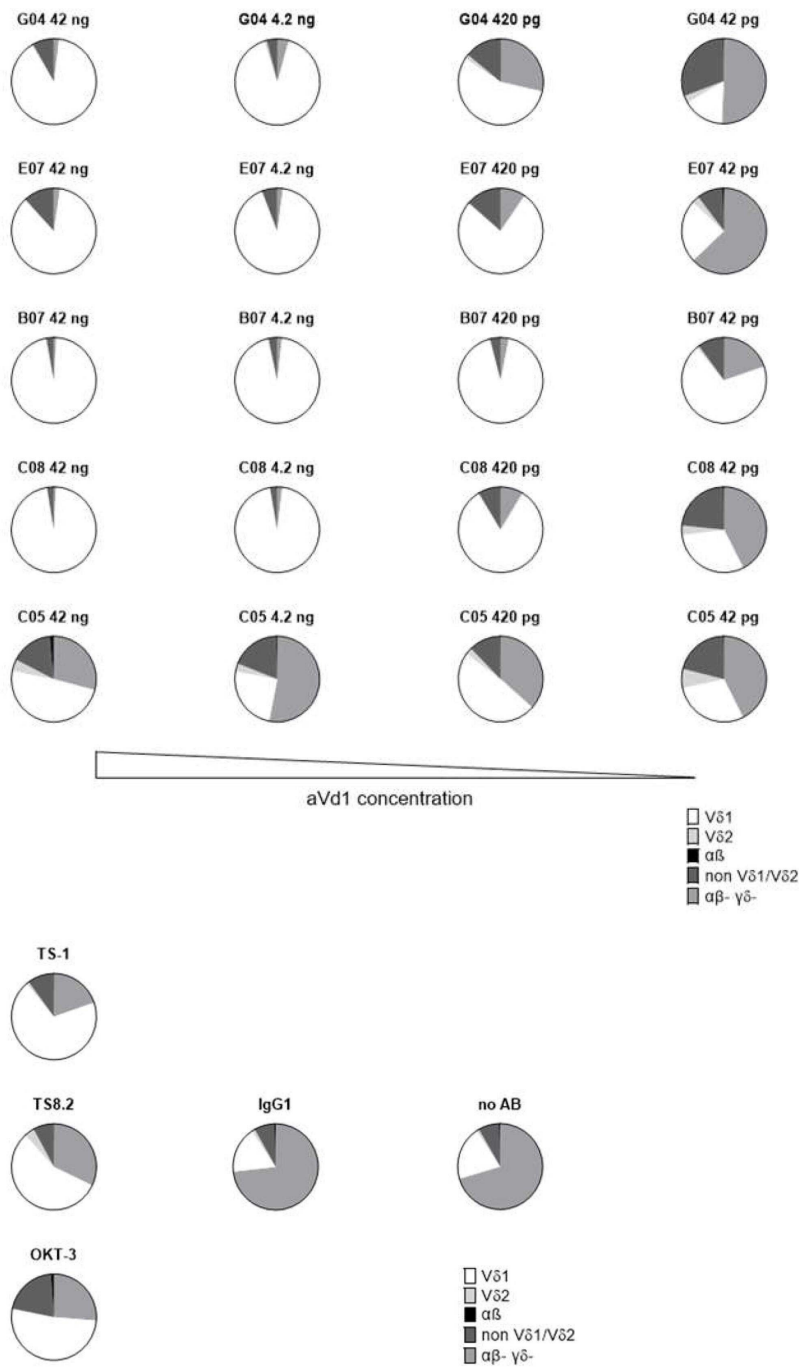
D)



도면15

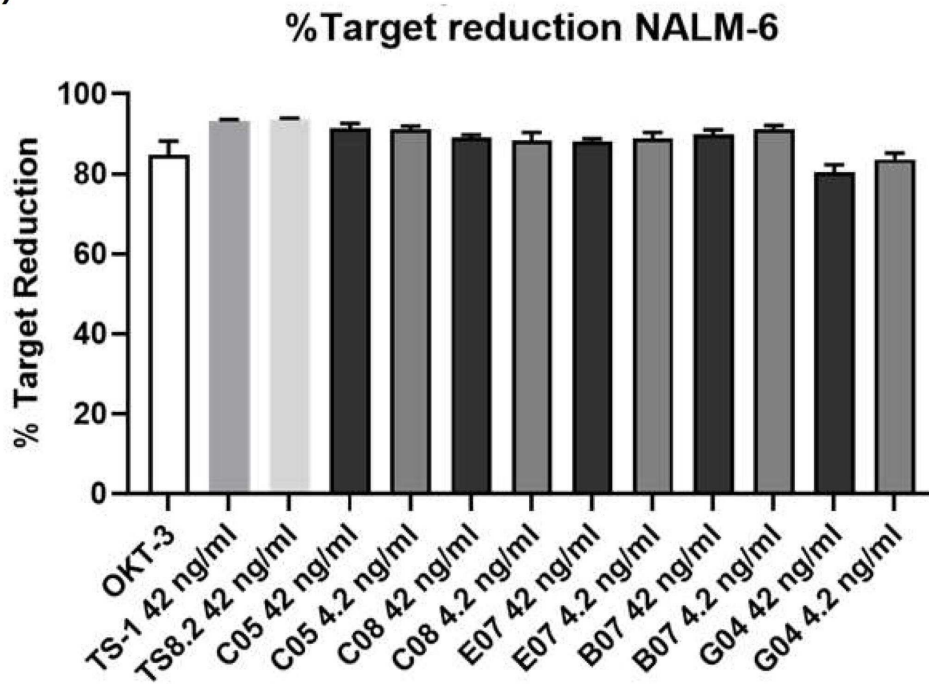


도면16

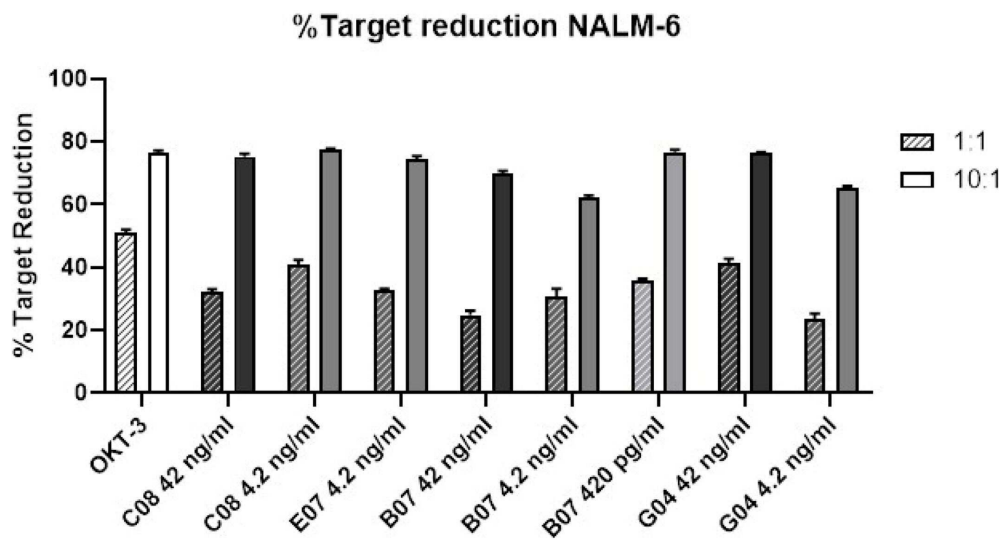


도면17

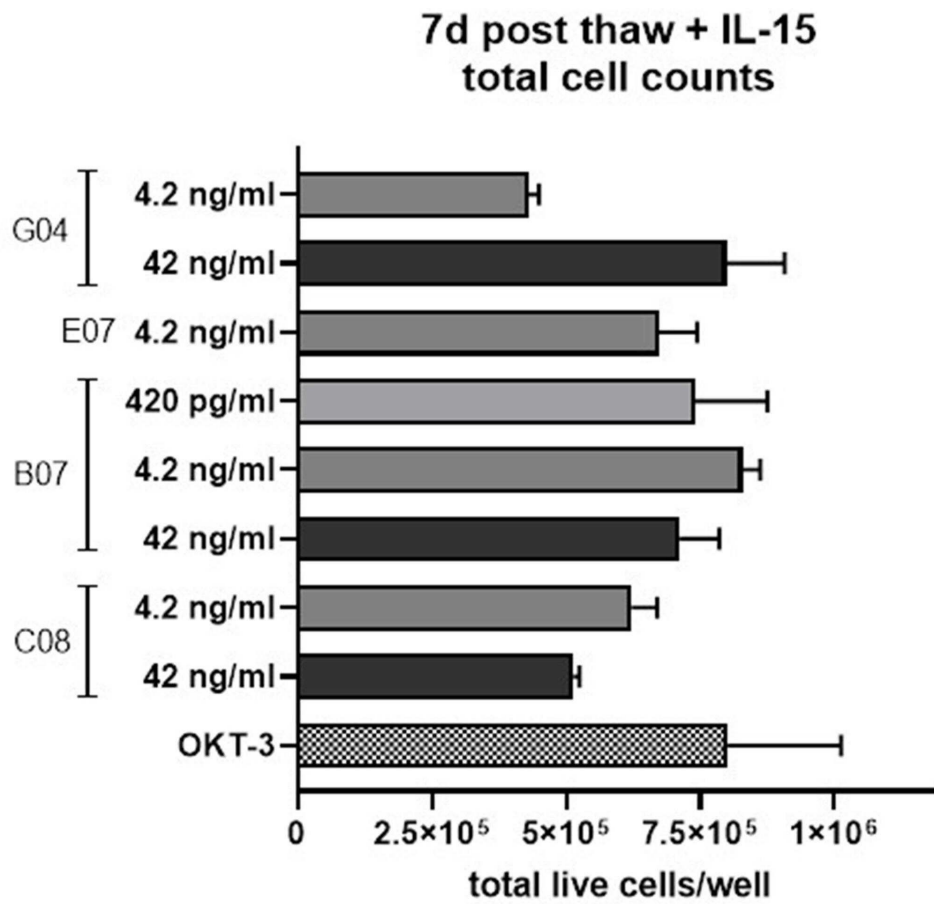
A)



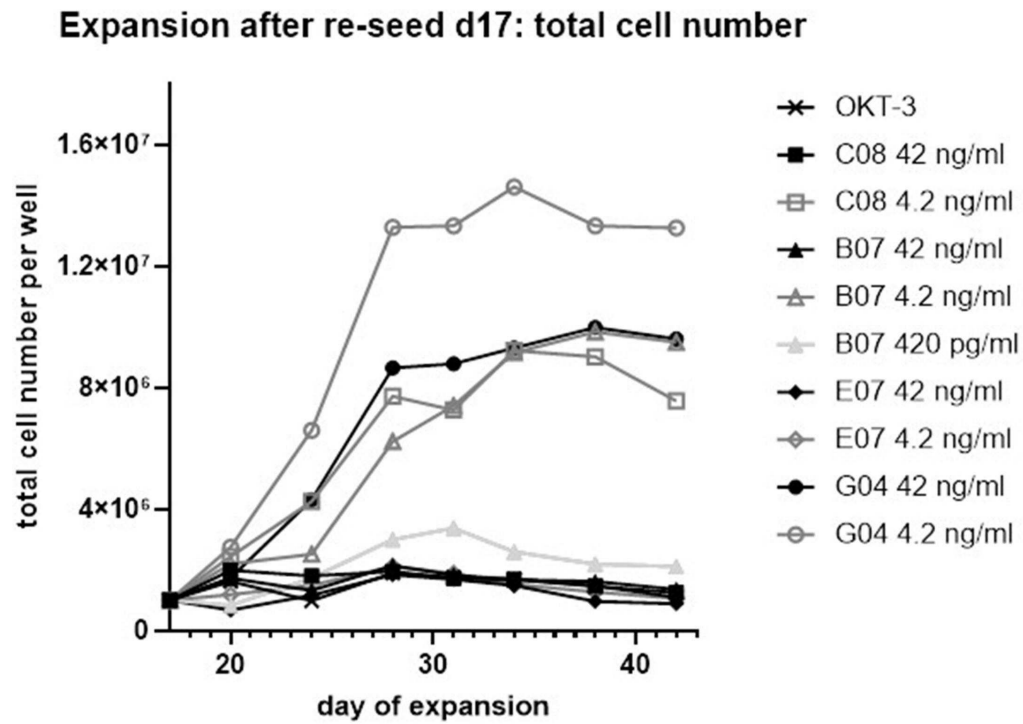
B)



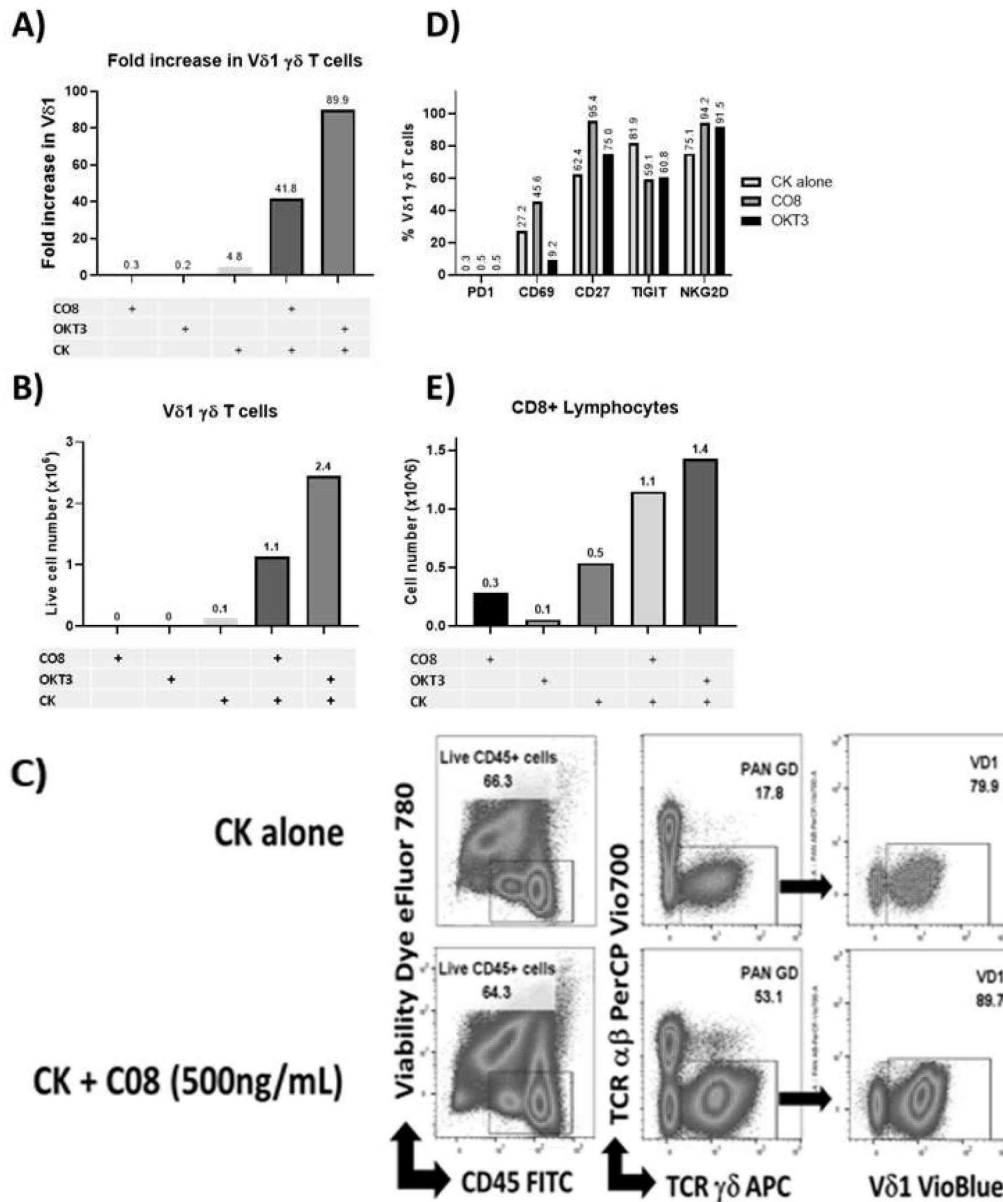
도면18



도면19



도면20



서열목록

- <110> GammaDelta Therapeutics Limited
- <120> EX VIVO GAMMA DELTA T CELL POPULATIONS
- <130> IP22-302/GDT/GB
- <150> GB1911799.3
- <151> 2019-08-16
- <150> GB2010760.3
- <151> 2020-07-13
- <150> GB2012172.9
- <151> 2020-08-05

<160> 135
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 209
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Ser Ser Val Ser Met Pro Val Arg
 1 5 10 15
 Lys Ala Val Thr Leu Asn Cys Leu Tyr Glu Thr Ser Trp Trp Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Phe Trp Tyr Lys Gln Leu Pro Ser Lys Glu Met Ile Phe Leu
 35 40 45
 Ile Arg Gln Gly Ser Asp Glu Gln Asn Ala Lys Ser Gly Arg Tyr Ser
 50 55 60
 Val Asn Phe Lys Lys Ala Ala Lys Ser Val Ala Leu Thr Ile Ser Ala
 65 70 75 80
 Leu Gln Leu Glu Asp Ser Ala Lys Tyr Phe Cys Ala Leu Gly Glu Ser
 85 90 95
 Leu Thr Arg Ala Asp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Gly Thr Arg Val Thr
 100 105 110
 Val Glu Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg
 115 120 125
 Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
 130 135 140
 Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr
 145 150 155 160
 Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser
 165 170 175
 Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe
 180 185 190
 Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser

	195	200	205
Ser			
<210>	2		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<400>	2		
Val Asp Tyr Ala Asp Ala Phe Asp Ile			
1	5		
<210>	3		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<400>	3		
Pro Ile Glu Leu Gly Ala Phe Asp Ile			
1	5		
<210>	4		
<211>	8		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<400>	4		
Thr Trp Ser Gly Tyr Val Asp Val			
1	5		
<210>	5		
<211>	9		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<400>	5		
Glu Asn Tyr Leu Asn Ala Phe Asp Ile			
1	5		
<210>	6		
<211>	8		
<212>	PRT		

<213> Homo sapiens

<400> 6

Asp Ser Gly Val Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

His Gln Val Asp Thr Arg Thr Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 8

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 9

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

His Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Val

1 5

<210> 11

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val

1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

His Ser Trp Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

His Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Leu Thr

1 5

<210> 15

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Val Val

1 5 10

<210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 16
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Gln Val Thr

1 5 10
 <210> 17
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 17
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5
 <210> 18
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 18
 Gln Gln Phe Lys Arg Tyr Pro Pro Thr

1 5
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 19
 Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Thr Leu Val

1 5 10
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 20

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Gln Gln Ser His Ser His Pro Pro Thr

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Asp Thr

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 23

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr

1 5

<210> 24

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Leu Leu Thr
 1 5
 <210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 26
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile

1 5
 <210> 27
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 27
 Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr
 1 5
 <210> 28
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 28

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Ser Thr
 1 5
 <210> 29
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile
 1 5
 <210> 30
 <211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Ile Ser Gly Gly Gly Gly Thr Thr

1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr

1 5

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn

1 5

<210> 33

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn

1 5

<210> 34

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile

1 5

<210> 35
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 35
 Thr Tyr Tyr Gly Ser Lys Trp Tyr Asn
 1 5
 <210> 36
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 36
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile
 1 5
 <210> 37
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 37
 Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile
 1 5
 <210> 38
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 38
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1 5
 <210> 39
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 39
 Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr

1 5
 <210> 40
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 40
 Gly Asp Ser Val Ser Ser Lys Ser Ala Ala

1 5 10
 <210> 41
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 41
 Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5
 <210> 42
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 42
 Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5
 <210> 43
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 43
 Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp

1 5
 <210> 44
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 44
 Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala
 1 5 10

<210> 45
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 45

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala
 1 5 10

<210> 46
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 46

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1 5

<210> 47
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 47
 Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala
 1 5 10

<210> 48
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 48

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr
 1 5

<210> 49
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 50

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Gln Ser Ile Gly Thr Tyr

1 5

<210> 51

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Asn Ile Gly Ser Gln Ser

1 5

<210> 52

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Asp Ile Asn Asp Trp

1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gln Ser Leu Ser Asn Tyr

1 5

<210> 54

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gln Asn Ile Arg Thr Trp

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Arg Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr

1 5

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Gln Ser Ile Ser Thr Trp

1 5

<210> 57

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 58

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 59

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Gln Ser Ile Ser Thr Trp

1 5

<210> 60

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 61

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Gln Ser Ile Ser Ser His

1 5

<210> 62

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

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

Ala Arg Val Asp Tyr Ala Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn
20 25 30

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

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

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

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

Ser Pro Ile Glu Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

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 Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Ser Thr Asp Tyr Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 65

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

 85 90 95
Ala Arg Glu Asn Tyr Leu Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr

 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 66

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Ser Ser Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 67

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

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

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Gln Val Asp Thr Arg Thr Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 68

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

400> 68

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 Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
 35 40 45
 Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
 50 55 60
 Val Ser Val Arg Ser Arg Ile Thr Ile Asn 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 Ala Arg Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 69
<211> 120
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 69
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 Val Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn 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 Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 70
<211> 118
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 70
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1						5						10						15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Asp	Tyr			
20					25					30								
Tyr	Met	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val			
35					40					45								
Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val			
50					55					60								
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr			
65					70					75					80			
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys			
85					90					95								
Ala	Arg	His	Ser	Trp	Asn	Asp	Ala	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr			
100					105					110								
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser													
115																		
<210>	71																	
<211>	120																	
<212>	PRT																	
<213>	Homo sapiens																	
<400>	71																	
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	Ala	Trp	Asn	Trp	Ile	Arg	Gln	Ser	Pro	Ser	Arg	Gly	Leu	Glu			
35					40					45								
Trp	Leu	Gly	Arg	Thr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Lys	Trp	Tyr	Asn	Glu	Tyr	Ala			
50					55					60								
Leu	Ser	Val	Lys	Ser	Arg	Ile	Ile	Ile	Asn	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 Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp Gly Gln

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 72

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg His Ser Trp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

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

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

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

115
 <210> 74
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 74
 Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Ala Cys Arg Ala Gly Gln Ser Ile Gly
 20 25 30
 Thr Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

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

Leu Leu Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

105

<210> 75

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Ala Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro

1

5

10

15

Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Gln

20

25

30

Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Met Leu Val

35

40

45

Ile Tyr Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser

50

55

60

Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu

65

70

75

80

Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser

85

90

95

Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

110

<210> 76

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35

40

45

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

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

<210> 77
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 77

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

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

<210> 78
<211> 109
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 78

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

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

<210> 79
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 79

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

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

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

100 105 110

<210> 80

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 81

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe

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

<210> 82

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

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

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

<210> 83

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

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

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

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr
 85 90 95

Pro Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 84

<211> 109

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 85
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 85
 Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser
 20 25 30
 Ser His Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

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

<210> 86
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 86
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

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

65						70						75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
				85					90					95			
Ala	Arg	Val	Asp	Tyr	Ala	Asp	Ala	Phe	Asp	Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr		
			100					105					110				
Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser		
		115					120					125					
Gly	Gly	Gly	Ala	Ser	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu		
	130					135				140							
Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Ala	Cys	Arg	Ala	Gly	Gln		
145				150					155					160			
Ser	Ile	Gly	Thr	Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala		
				165					170					175			
Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Val	Ala	Ser	Ser	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro		
		180						185					190				
Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile		
	195					200						205					
Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ser		
	210					215					220						
Tyr	Ser	Thr	Leu	Leu	Thr	Phe	Gly	Arg	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys		
225				230					235					240			
<210>	87																
<211>	240																
<212>	PRT																
<213>	Homo sapiens																
<400>	87																
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Arg		
1			5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Val	Ser	Ser	Asn		
		20						25				30					
Tyr	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val		

35 40 45
 Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Pro Ile Glu Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

 Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ala Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val
 130 135 140
 Ala Pro Gly Lys Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly
 145 150 155 160
 Ser Gln Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Met
 165 170 175
 Leu Val Ile Tyr Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg

 180 185 190
 Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg
 195 200 205
 Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser
 210 215 220
 Ser Ser Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 225 230 235 240
 <210> 88
 <211> 243
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 88
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

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

<210> 89

<211> 240

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Asn Tyr Leu Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Leu Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

225 230 235 240

<210> 90

<211> 239

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly Thr Thr Tyr Ser Ser Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Lys
210 215 220

Arg Tyr Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225 230 235

<210> 91
<211> 244
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 91

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

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ala Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val
130 135 140

Ser Gly Ser Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg
145 150 155 160

Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser

180 185 190
Gly Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
210 215 220
Ser Ser Tyr Thr Ser Thr Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys
225 230 235 240
Leu Thr Val Leu

<210> 92
<211> 242
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<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 Ser Ser Asn
20 25 30
Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala
50 55 60
Val Ser Val Arg Ser Arg Ile Thr Ile Asn 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 Ala Arg Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu

225 230 235 240

Ile Lys

<210> 93

<211> 242

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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 Val Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala

50 55 60

Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn 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 Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser
130 135 140
Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala
145 150 155 160
Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly
165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly
180 185 190
Val Pro Leu Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu
195 200 205
Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Gln Ser His Ser His Pro Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp
225 230 235 240
Ile Lys

<

210> 94

<211> 240

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg His Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr

100

105

110

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

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

Tyr Ser Thr Pro Asp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

225

230

235

240

<210> 95

<211> 242

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

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

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Gly Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala

50 55 60

Leu Ser Val Lys Ser Arg Ile Ile Ile Asn 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 Ala Arg Asp Tyr Tyr Tyr Ser Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu

225 230 235 240

Ile Lys

<210> 96

<211> 240

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Ser Trp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Ser Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 225 230 235 240
 <210> 97
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 97
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg His Ser Trp Asn Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu
 130 135 140
 Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln
 145 150 155 160
 Ser Ile Ser Ser His Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala
 165 170 175
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro
 180 185 190
 Ser Arg Phe Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile

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

<210> 98
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic linker
 <400> 98

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

1 5 10

<210> 99
 <211> 765
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 99

gccatggccc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggtaagcc tggagggtcc 60
 ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg actactacat gagctggatc 120
 cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtttcataca ttagtagtag tggtagtacc 180

atatactacg cagactctgt gaagggccga ttcacatct ccagggacaa cgccaagaac 240
 tcaactgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccaggagaca cggctgtgta ttactgtgca 300
 aggggtggact acgtgatgc atttgatatac tggggccagg gcaccctggt caccgtctcg 360
 agtgggtggag gcggttcagg cggaggtggc tctggcgggtg gcgctagcga catccagatg 420
 acccagtctc catcctccct gtctgcatct gtaggagaca gagtacatc cgcttgccgg 480
 gcaggtcaga gcattggcac ctatttaaata tggatcagc agaaaccagg gaaagcccct 540
 aaactcctga tctatgttgc atccagtttg caaagtgggg tcccgtcacg gticagtggc 600

agtggatctg ggacagaatt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga agattttgca 660
 acttactact gtcaacagag ttacagtacc ctctcactt tcggcagagg gaccaaggtg 720
 gaaatcaaac gtaccgcggc cgcacccgca catcatcatc accat 765

<210> 100

<211> 768
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 100

gccatggccg aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtagagcc tggcaggtcc 60
 ctgagactct cctgtgcagc ctctgggttc accgtcagta gcaactacat gagctgggtc 120
 cgccaggctc caggggaaggg gctggagtgg gtctcagtta tttatagcgg tggtagcaca 180

tactacgcag actccgtgaa gggccgattc accatctcca gagacaattc caagaacacg 240
 ctgtatcttc aaatgaacag cctgagagcc gaggacacgg ctgtgtatta ctgtgcgagc 300
 cccatagagc tgggtgcttt tgatatctgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt 360
 ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcggtggcg ctagctccta tgagctgact 420
 cagccaccct cagtgtcagt ggccccagga aagacggcca ggattacctg tgggggaaac 480
 aacattgga gtc aaagtgt gcactggtag cagcagaagc caggccaggc ccctatgctg 540
 gtcatctatt atgatatgca ccggccctca gggatccctg agcgattctc tggctccaac 600

tctgggaaca cgccaccct gaccatcagc agggctgaag ccggggatga ggccgactat 660
 tactgtcagg tgtgggatag tagtagtgat catgtggtat tcggcggcgg gaccaagctg 720
 accgtcctag gtcagcccg ccgcccaccc gcacatcacc atcccat 768

<210> 101
 <211> 774
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 101

gccatggccc aggtacagct gcagcagtc ggtccaggac tgggaagcc ctgcagacc 60
 ctctcactca cctgtgccat ctccggggac agtgtctcca gcaaaagtgc tgcttggaac 120
 tggatcaggc agtccccatc gagaggcctt gagtggctgg gaaggacata ctacaggtcc 180

aagtgtcta ctgattatgc agcatctgtg aaaagtcgaa taaccatcaa cccagacaca 240
 tccaagaacc agctctccct gcagttaaac tctgtgactc ccgaggacac ggctgtgtat 300
 tactgtgcaa gaacgtggag tggttatgtg gacgtctggg gccaaaggaac cctggtcacc 360
 gtctcgagt gttggaggcg ttcaggcgga ggtggctctg gcggtggcgc tagcgacatc 420
 cagatgacct agtccccct ccgccctgtct gcactgtgtg gagacagagt caccatcact 480
 tgccgggcca gtcaagatat taatgactgg ttggcctggt atcagcataa acctgggaaa 540

gcccctaagc tcttgatcta tgatgcctcc agtttggaaa gtggggtccc atcaaggttc 600

agcggcagtg gatctgggac agaattcact ctccacatca gcagcctgca gcctgatgat 660

tttgcaactt actactgtca acagagttac agtacccttc aggtcacttt tggccagggg 720

acacgactgg agatcaaacg taccgcggcc gcatccgcac atcatcatca ccat 774

<210> 102

<211> 765

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 102

gccatggcgg aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtaagcc tggagggtcc 60

ctgagactct cctgtgcggc ctctggattc accttcagtg actactacat gagctggatc 120

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtttcataca ttagtagtag tggtagtacc 180

atatactacg cagactctgt gaagggccga ttcacatct ccagggacaa cgccaagaac 240

tcactgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtgta ttactgtgcg 300

agagaaaact atctaaatgc ttttgatatac tggggccgtg gcaccctggt caccgtctcg 360

agtgggtggag gcggttcagg cggagggtggc tctggcggtg gcgctagcga catccagatg 420

accagtctc catcctccct gtctgcatct gtaggagaca gattcaccat cacttgccgg 480

acaagtcaga gccttagtaa ttacttaaat tggatcagc agaaaccagg gaaagcccct 540

aagtcctga tctatgtgc atccagtttg caaagtgggg tcccatcaag gttcagtggc 600

agtggatctg ggacagattt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga agattttgcg 660

acttactact gtcaacagag ttacagtacc cctctcactt tcggcggagg gaccaagcta 720

gagatcaaac gtaccgcggc cgcacccgca catcatcacc accat 765

<210> 103

<211> 762

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 103

gccatggcgg aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtaagcc tgggggtcc 60

ctgagactct cctgtgcagg ctctggattc acctttagca gctatgcat gagctgggtc 120

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcagcta ttagtggtgg tggtagtacc 180

acatactcct cagactccgt gaagggccgg ttcacatct ccagagacaa ttccaagaac 240

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggctgtgta ttactgtgcg 300
 agagattcag gggttgcttt tgatatctgg ggccaaggaa ccctggtcac cgtctcgagt 360
 ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcggtggcg ctagcgacat ccagatgacc 420
 cagtctccat ccttcctgtc tgcattctga ggagacagag tcaccatcac ttgccgggcc 480
 agtcagaata tacgtacctg gttggcctgg tatcagcaga aaccaggag agcccctaag 540
 ctctgatct atgatgcctc cagtttggaa agtgggtcc catcaaggtt cagcggcagt 600

ggatctggga ctgatttcac tctcaccatc agcagcctgc agcctgaaga ttttgcaact 660
 tattactgtc aacagtttaa acgttacct ccgacgttg gcctggggac caaggtggag 720
 atcaaacgta ccgcggccgc atccgcacat catcatcacc at 762

<210> 104

<211> 780

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 104

gccatggccc aggtccagct ggtacagtct ggagcagagg tgaaaaagcc cggggagtct 60
 ctgaagatct cctgtaaggg ttctggatac agctttacca gctactggat cggctgggtg 120
 cgccagatgc ccgggaaagg cctggagtgg atggggatca tctatcctgg tgactctgat 180

accagataca gcccgctcctt ccaaggccag gtcaccatct cagccgacaa gtccatcagc 240
 accgcctacc tgcagtggag cagcctgaag gcctcggaca ccgcatgta ttattgtgcg 300
 agacatcagg ttgatacacg gacggctgat tactggggcc agggaaacct ggtcacctc 360
 tcgagtgggt gaggcgggtc aggcggaggt ggctctggcg gtggcgctag ccagtctgcg 420
 ctgactcagc ctgcctccgt gtctgggtct cctggacagt cggtcacat ctctgcact 480
 ggaaccagga gtgacgttgg tggttataac tatgtctcct ggtaccaaca ccaccaggc 540
 aaagcccca aactcatgat ttatgaggtc agtaatcggc cctcagggtt ttctaacgc 600

ttctctggct ccaagtctgg caacacggcc tccctgacca tctctgggt ccaggtgag 660
 gacgaggctg attattactg cagctcatac acaagcacca gcactctggt attcggcgga 720
 gggaccaagc tgaccgtcct aggtcagccc gcggccgcat ccgcacatca tcatcaccat 780

<210> 105

<211> 771

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 105

gccatggccc aggtacagct gcagcagtca ggtccaggac tgggaagcc ctgcagacc	60
ctctcactca cctgtgcat ctccggggac agtgtctcta gcaacagtgc tgcttgaac	120
tggatcaggc agtccccatc gagaggcctt gattggctgg gaaggacata ctacaggtcc	180
aagtgtata atgattatgc agtatctgtg agaagtcgaa taaccatcaa ccagacaca	240
tccaagaacc agttctccct gcagctgaac tctgtgactc ccgaggacac ggctgtgtat	300
tactgtgcaa gaagctggaa tgatgctttt gatatctggg ggcaaggac cacggtcacc	360
gtctcgagt gtggaggcgg ttcaggcgga ggtggctctg gcggtggcgc tagcgatatt	420
gtgatgacac agtctcctc caccctgtct gcatctatag gagacagagt caccatcact	480
tgccgggccc gtcagagtat tagtacctgg ttggcctggt atcagcagaa accaggga	540
gcccctaagc tctgatcta tgatgcctcc agtttgaaa gtggggtccc attaggttc	600
agcggcagt gtatctggac agatttact ctaccatca gcagctgca acctgaagat	660
tttgcaactt actactgtca acagagttac agtaccgcc tcactttcgg cggagggacc	720
aaggtggaga tcaaacgtac cgcggccgca tccgcacatc atcatcacca t	771

<210> 106

<211> 771

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 106

gccatggccc aggtacagct gcagcagtca ggtccaggcc tgggaagcc ctgcagacc	60
ctctcactca cctgtgtcat ctccggggac agtgtctcta gcaacagtgc tgcttgaac	120
tggatcaggc agtccccatc gcgaggcctt gattggctgg gaaggacata ctacaggtcc	180
aagtgtata atgattatgc agtatctgtg aaaagtcgaa taaccatcaa ccagacaca	240
tccaagaacc agttctccct gcagctgaac tctgtgactc ccgaggacac ggctgtctat	300
tattgtgcaa gagactacta ctacagtatg gacgtctggg gccaaaggac aatggtcacc	360
gtctcgagt gtggaggcgg ttcaggcgga ggtggctctg gcggtggcgc tagcgacatc	420
cagatgaccc agtctcctc caccctgtct gcatctgtag gagacagagt caccatcact	480
tgccgggcca gtcagagtat tagtagctgg ttggcctggt atcagcagaa accaggga	540
gcccctaagc tctgatcta tgatgcctcc agtttgaaa gtggggtccc attaggttc	600
agcggcagt gtatctggac agaatttact ctaccatca gcagcctgca gcctgatgat	660
tttgcaactt attactgtca acagagtcac agtcacccc ctactttcgg ccctgggacc	720

aaagtggata tcaaacgtac cgcgcccgca tccgcacatc atcatcacca t 771

<210> 107

<211> 765

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 107

gccatggccc aggtgcagct ggtggagtct gggggaggct tggicaagcc tggagggtcc 60

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg actactacat gagctggatc 120

cgccaggctc caggggaagg gctggagtgg gtttcataca ttagtagtag tggtagtacc 180

atatactacg cagactctgt gaagggccga ttcacatct ccagggacaa cgccaagaac 240

tcactgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccaggaca cgccctgtga ttactgtgcg 300

agacatagct ggaatgatgc ttttgatgtc tggggccagg gaacctgtgt caccgtctcg 360

agtgggtggag gcggttcagg cggaggtggc tctggcgggt gcgctagcga catccagatg 420

accagttctc catcctccct gtctgcattc gtaggagaca gattctccat cacctgccgg 480

gcaagtcaga gcattagcag ctatttaaatt tggatcagc agaaaccagg gaaagcccct 540

aagtcctga tctatgtgc atccagtttg caaagtgggg tcccatcaag gttcagtggc 600

agtggatctg ggacagattt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga agattttgca 660

acttactact gtcagcagag ttacagtacc cccgacatt tcggcggagg gaccaaggtg 720

gaaatcaaac gtaccgcggc cgcattccga catcatcacc accat 765

<210> 108

<211> 771

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 108

gccatggccc aggtacagct gcagcagtc ggtccaggac tgggaagcc ctgcagacc 60

ctctcactca cctgtgcat ctccggggac agtgtctcta gcaacagtgc tgcttggaac 120

tggatcaggc agtccccatc gagaggcctt gattggctgg gaaggacata ctacgggtcc 180

aagtgtata atgagtatgc actatctgtg aaaagtcgaa taatcatcaa ccagacaca 240

tccaagaacc agttctccct gcagctgaac tctgtgactc ccgaggacac ggctgtctat 300

tattgtgcaa gagactacta ctacagtatg gacgtctggg gccagggaac cctggtcacc 360

gtctcagtg gtggaggcgg ttcaggcggg ggtggctctg gcggtggcgc tagcgatatt 420

gtgatgactc agtctccttc caccctgtct gcatttatag gagacagagt caccatcact 480

tgccgggccc gtcagagtat tagtacctgg ttggcctggt atcagcagaa accagggaaa 540

gcccctaagc tctgatcta tgatgcctcc agtttgaaa gtggggctcc attaaggttc 600

agcggcagtg gatctgggac agaattcact ctgccatca gcagcctgca gcctgatgat 660

tttgcaactt actactgtca acagagttac agtaccgccg taacttttgg ccaggggacc 720

aaggtggaga tcaaactgac cgcgccgca tccgcacatc atcatcacca t 771

<210> 109

<211> 765

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 109

gccatggccc aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtaagcc tggagggtcc 60

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg actactacat gagctggatc 120

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtttcataca ttagtagtag tggtagtacc 180

atatactacg cagactctgt gaagggccga ttcacatct ccagggacaa cgccaagaac 240

tactgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cgcccgtagt ttactgtgcg 300

agacatagct ggagtgatgc ttttgatatc tggggccaag gaacctgtgt caccgtctcg 360

agtgggtggag gcggttcagg cggagggtgc tctggcggtg gcgctagcga catccagatg 420

accagtctc catcctcctt gtctgcatct gtaggagaca gagtacatc cacttgccag 480

gcgagtcagg acattagcaa ctatttaaatt tggatcagc agaaaccagg gaaagcccct 540

aagctcctga tctacgatgc atccaatttg gaaacagggg tcccatcaag gttcagtgga 600

agtggatctg ggacagattt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga agattttgca 660

acttactact gtcaacagag ttacagtact cctctcactt tcggcggagg gaccaaggtg 720

gagatcaaac gtaccgcggc cgcacccgca catcatcatc accat 765

<210> 110

<211> 765

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 110

gccatggccc aagtgcagct ggtggagtcc gggggaggct tagttcagcc tgggggggtcc 60

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc accttcagtg actactacat gagctggatc 120

cgccaggctc cagggaaggg gctggagtgg gtttcataca ttagtagtag tggtagtacc 180

atatactacg cagactctgt gaagggccga ttcacatctt ccagggacaa cgccaagaac 240
 tcactgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtgta ttactgtgcg 300
 agacatagct ggaatgatgc ttttgataac tggggccgtg gcaccctggt caccgtctcg 360
 agtgggtggag gcggttcagg cggaggtggc tctggcgggt gcgctagcga catccagatg 420
 acccagtctc catcctccct gtctgcatct gtaggagaca gagtacat cacttgccgg 480
 gcaagtcaga gcattagcag ccatttaaatt tggatcagc agaaaccagg gaaagcccct 540

aagctcctga tctatgctgc atccagtttg caaagtgggg tcccatccag gttcagtgcc 600
 agtggatctg ggacagattt cactctcacc atcagcagcc tgcagcctga agattttgca 660
 acttactact gtcaacagag ttacagtacc ctgctcactt tcggcggagg gaccaaggtg 720
 gaaatcaaac gtaccgcggc cgcacccgca catcatcatc accat 765

<210> 111

<211> 664

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Leu Ile Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Leu Thr Phe Gly Arg Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Ala

100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

130 135 140
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 145 150 155 160

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

 225 230 235 240
 Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala
 245 250 255
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser
 260 265 270
 Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 275 280 285
 Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 290 295 300

 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Asp Tyr Ala Asp Ala
 305 310 315 320
 Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 325 330 335
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 340 345 350
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 355 360 365
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

 370 375 380

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

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

 515 520 525
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 530 535 540
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 545 550 555 560
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 565 570 575
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 580 585 590

 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 595 600 605
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 610 615 620
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 625 630 635 640

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

645 650 655

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

660

<210> 112

<211> 667

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Trp Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Gln Val Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

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

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190
Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser

210 215 220
Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala

225 230 235 240
Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Lys Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile

245 250 255
Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr

260 265 270
Arg Ser Lys Trp Ser Thr Asp Tyr Ala Ala Ser Val Lys Ser Arg Ile

275 280 285
Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Leu Ser Leu Gln Leu Asn

290 295 300
Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Trp

305 310 315 320
Ser Gly Tyr Val Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

325 330 335
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

340 345 350
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp

355 360 365
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

370 375 380
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

385 390 395 400
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

405 410 415
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

420 425 430
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 435 440 445
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 450 455 460
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 465 470 475 480
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 485 490 495
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 500 505 510
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 515 520 525
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 530 535 540
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 545 550 555 560
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 565 570 575
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 580 585 590
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 595 600 605
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 610 615 620
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 625 630 635 640
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 645 650 655
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 660 665
 <210> 113
 <211> 664

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Ala

100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

180 185 190

Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly

210 215 220

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

225 230 235 240
 Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala
 245 250 255
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser
 260 265 270
 Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 275 280 285
 Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 290 295 300
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Leu Asn Ala

 305 310 315 320
 Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 325 330 335
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 340 345 350
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 355 360 365
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 370 375 380

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

 450 455 460
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 465 470 475 480

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
485 490 495

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
500 505 510

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
515 520 525

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
530 535 540

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
545 550 555 560

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
565 570 575

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
580 585 590

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
595 600 605

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
610 615 620

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
625 630 635 640

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
645 650 655

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660

<210> 114

<211> 663

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

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

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

20	25	30
Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu		
35	40	45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu		
65	70	75
Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Lys Arg Tyr		
85	90	95
Pro Pro Thr Phe Gly Leu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Ala		
100	105	110
Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys		
115	120	125
Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg		
130	135	140
Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn		
145	150	155
Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser		
165	170	175
Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys		
180	185	190
Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr		
195	200	205
Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly		
210	215	220
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala		
225	230	235
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala		
245	250	255
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly		
260	265	270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His

370 375 380

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

385 390 395 400

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys

405 410 415

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu

420 425 430

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

435 440 445

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

450 455 460

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

465 470 475 480

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

485 490 495

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

500 505 510

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

515 520 525
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 530 535 540
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 545 550 555 560
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

 565 570 575
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 580 585 590
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 595 600 605
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 610 615 620
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 625 630 635 640

 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 645 650 655
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 660
 <210> 115
 <211> 667
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 115
 Ala Ser Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro
 1 5 10 15
 Gly Gln Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Arg Ser Asp Val Gly
 20 25 30

 Gly Tyr Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro
 35 40 45
 Lys Leu Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr
 85 90 95
 Ser Thr Ser Thr Leu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110
 Gly Gln Pro Ala Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
 115 120 125
 Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
 130 135 140
 Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
 145 150 155 160
 Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
 165 170 175
 Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
 180 185 190
 Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
 195 200 205
 Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Gln Val Gln Leu Val Gln
 210 215 220
 Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu Ser Leu Lys Ile Ser Cys
 225 230 235 240
 Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly Trp Val Arg
 245 250 255
 Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Tyr Pro Gly
 260 265 270
 Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln Gly Gln Val Thr Ile
 275 280 285
 Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Leu Gln Trp Ser Ser Leu
 290 295 300
 Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala Arg His Gln Val Asp

305 310 315 320
 Thr Arg Thr Ala Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 325 330 335
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
 340 345 350
 Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 355 360 365
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 370 375 380
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

 385 390 395 400
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
 405 410 415
 Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 420 425 430
 Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 435 440 445
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 450 455 460

 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 465 470 475 480
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 485 490 495
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 500 505 510
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 515 520 525
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

 530 535 540
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 545 550 555 560

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
565 570 575

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
580 585 590

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
595 600 605

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
610 615 620

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
625 630 635 640

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
645 650 655

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660 665

<210> 116
<211> 663
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<400> 116

Ala Ser Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro
1 5 10 15

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

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

Ile Tyr Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu
65 70 75 80

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

Asp His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100	105	110	
Pro Ala Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu			
115	120	125	
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr			
130	135	140	
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys			
145	150	155	160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr			
165	170	175	
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His			
180	185	190	
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys			
195	200	205	
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly			
210	215	220	
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala			
225	230	235	240
Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala			
245	250	255	
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Val Ile Tyr Ser Gly Gly Ser			
260	265	270	
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp			
275	280	285	
Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu			
290	295	300	
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Pro Ile Glu Leu Gly Ala Phe			
305	310	315	320
Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr			
325	330	335	
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser			
340	345	350	

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
355 360 365

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
370 375 380

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
385 390 395 400

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
405 410 415

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
420 425 430

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
435 440 445

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
450 455 460

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
465 470 475 480

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
485 490 495

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
500 505 510

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
515 520 525

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
530 535 540

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
545 550 555 560

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
565 570 575

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
580 585 590

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
595 600 605

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
610 615 620
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
625 630 635 640

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
645 650 655
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660

<210> 117

<211> 666

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

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

Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr
85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Ala
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125
Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145 150 155 160
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 165 170 175

 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly
 210 215 220
 Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile
 225 230 235 240
 Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg

 245 250 255
 Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg
 260 265 270
 Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val Arg Ser Arg Ile Thr
 275 280 285
 Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser
 290 295 300
 Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Trp Asn
 305 310 315 320

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

 385 390 395 400

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 405 410 415
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 420 425 430
 Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 435 440 445
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 450 455 460

 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 465 470 475 480
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 485 490 495
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 500 505 510
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 515 520 525
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

 530 535 540
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 545 550 555 560
 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 565 570 575
 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 580 585 590
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 595 600 605

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

660

665

<210> 118

<211> 666

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Leu Arg Phe

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu

65

70

75

80

Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser His Ser His

85

90

95

Pro Pro Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Ala

100

105

110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115

120

125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

130

135

140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145

150

155

160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

165

170

175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

180

185

190

Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

195 200 205
Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly

210 215 220
Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Val Ile
225 230 235 240

Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg
245 250 255

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

Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr
275 280 285

Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser
290 295 300

Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Tyr Tyr
305 310 315 320

Tyr Ser Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
325 330 335

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
340 345 350

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

355 360 365
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

370 375 380
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

385 390 395 400
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

405 410 415
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

420 425 430

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
435 440 445

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
450 455 460

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
465 470 475 480

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
485 490 495

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

500 505 510

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
515 520 525

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
530 535 540

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
545 550 555 560

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
565 570 575

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
580 585 590

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
595 600 605

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
610 615 620

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
625 630 635 640

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

645 650 655

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660 665

<210> 119
<211> 664
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Asp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Ala

100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg

130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys

180 185 190

Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala

245								250								255															
Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser																
260								265								270															
Thr	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg																
275								280								285															
Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Ser	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala																
290								295								300															
Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	His	Ser	Trp	Asn	Asp	Ala																
305								310								315								320							
Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser																
325								330								335															
Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr																
340								345								350															
Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro																
355								360								365															
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val																
370								375								380															
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser																
385								390								395								400							
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile																
405								410								415															
Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val																
420								425								430															
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala																
435								440								445															
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro																
450								455								460															
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val																
465								470								475								480							
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val																
485								490								495															

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 500 505 510
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 515 520 525
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 530 535 540

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

 610 615 620
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 625 630 635 640
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 645 650 655
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 660
 <210> 120
 <211> 666
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 120
 Ala Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser

 1 5 10 15
 Ile Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Gly Gln Ser Ile Ser
 20 25 30
 Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

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

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

 145 150 155 160
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 165 170 175
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly
 210 215 220

 Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile
 225 230 235 240
 Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala Trp Asn Trp Ile Arg
 245 250 255
 Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Gly
 260 265 270
 Ser Lys Trp Tyr Asn Glu Tyr Ala Leu Ser Val Lys Ser Arg Ile Ile
 275 280 285

Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

370

375

380

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

385

390

395

400

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

405

410

415

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

420

425

430

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

435

440

445

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

450

455

460

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

465

470

475

480

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

485

490

495

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

500

505

510

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

515

520

525

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

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

 580 585 590
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 595 600 605
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 610 615 620
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 625 630 635 640
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 645 650 655

 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 660 665
 <210> 121
 <211> 664
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 121
 Ala Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser
 1 5 10 15
 Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser
 20 25 30
 Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

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

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr
 85 90 95
 Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Ala
 100 105 110
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 115 120 125
 Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 130 135 140
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 145 150 155 160
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 165 170 175
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 195 200 205
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly
 210 215 220
 Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
 225 230 235 240
 Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala
 245 250 255
 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser
 260 265 270
 Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
 275 280 285
 Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
 290 295 300
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ser Trp Ser Asp Ala
 305 310 315 320
 Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser

325								330								335															
Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr																
340								345								350															
Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro																
355								360								365															
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val																
370								375								380															
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser																
385								390								395								400							
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile																
405								410								415															
Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val																
420								425								430															
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala																
435								440								445															
Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro																
450								455								460															
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val																
465								470								475								480							
Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val																
485								490								495															
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln																
500								505								510															
Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln																
515								520								525															
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala																
530								535								540															
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro																
545								550								555								560							
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr																
565								570								575															

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
580 585 590

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
595 600 605

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
610 615 620

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
625 630 635 640

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
645 650 655

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
660

<210> 122

<211> 664

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

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

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

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

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

Ser Ala Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr
85 90 95

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

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

115	120	125	
Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg			
130	135	140	
Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn			
145	150	155	160
Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser			
165	170	175	
Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys			
180	185	190	
Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr			
195	200	205	
Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly			
210	215	220	
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala			
225	230	235	240
Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala			
245	250	255	
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser			
260	265	270	
Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg			
275	280	285	
Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala			
290	295	300	
Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ser Trp Asn Asp Ala			
305	310	315	320
Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser			
325	330	335	
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr			
340	345	350	
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro			
355	360	365	

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val

370

375

380

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

385

390

395

400

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

405

410

415

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

420

425

430

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

435

440

445

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

450

455

460

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

465

470

475

480

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

485

490

495

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

500

505

510

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

515

520

525

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

530

535

540

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

545

550

555

560

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr

565

570

575

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

580

585

590

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

595

600

605

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

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

660
 <210> 123
 <211> 254
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TRDV1(30MZ) TRAC antigen sequence
 <400> 123
 Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Ser Ser Val Ser Met Pro Val Arg
 1 5 10 15
 Lys Ala Val Thr Leu Asn Cys Leu Tyr Glu Thr Ser Trp Trp Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Ile Phe Trp Tyr Lys Gln Leu Pro Ser Lys Glu Met Ile Phe Leu
 35 40 45

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

115 120 125
 Asp Ser Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp
 130 135 140
 Ser Gln Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr

145 150 155 160
 Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser
 165 170 175
 Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe
 180 185 190

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

<210> 124

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Optional scFv tag sequence (kappa sequence + His tag)

<400> 124

Arg Thr Ala Ala Ala Ser Ala His His His His His

1 5 10

<210> 125

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Optional scFv tag sequence (kappa sequence + His and FLAG tag)

<400> 125

Arg Thr Ala Ala Ala Ser Ala His His His His His His Lys Leu Asp

1 5 10 15

Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys

20 25 30

Asp Asp Asp Asp Lys

35

<210> 126

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Optional scFv tag sequence (lambda sequence + His tag)

<400> 126

Gly Gln Pro Ala Ala Ala Ser Ala His His His His His

1 5 10

<210> 127

<211> 38

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><223> Optional scFv tag sequence (lambda sequence + His and FLAG tag)

<400> 127

Gly Gln Pro Ala Ala Ala Ser Ala His His His His His His Lys Leu

1 5 10 15

Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr

20 25 30

Lys Asp Asp Asp Asp Lys

35

<210> 128

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Ser Ser Val Ser Met Pro Val Arg

1 5 10 15

Lys Ala Val Thr Leu Asn Cys Leu Tyr Glu Thr Ser Trp Trp Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile Phe Trp Tyr Lys Gln Leu Pro Ser Lys Glu Met Ile Phe Leu

35 40 45

Ile Arg Gln Gly Ser Asp Glu Gln Asn Ala Lys Ser Gly Arg Tyr Ser

50 55 60
 Val Asn Phe Lys Lys Ala Val Lys Ser Val Ala Leu Thr Ile Ser Ala
 65 70 75 80

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

 145 150 155 160
 Asp Lys Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser
 165 170 175
 Ala Val Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe
 180 185 190
 Asn Asn Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser
 195 200 205
 Ser Cys Thr Thr Ala Pro Ser Ala Gln Leu Lys Lys Lys Leu Gln Ala
 210 215 220

 Leu Lys Lys Lys Asn Ala Gln Leu Lys Trp Lys Leu Gln Ala Leu Lys
 225 230 235 240
 Lys Lys Leu Ala Gln Gly Ser Gly His His His His His His
 245 250

 <210> 129
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 129
 Met Leu Phe Ser Ser Leu Leu Cys Val Phe Val Ala Phe Ser Tyr Ser
 1 5 10 15

Gly Ser Ser Val

20

<210> 130

<211

> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Ala Gln Lys Val Thr Gln Ala Gln Ser Ser Val Ser Met Pro Val Arg

1 5 10 15

Lys Ala Val Thr Leu Asn Cys Leu Tyr Glu Thr Ser Trp Trp Ser Tyr

20 25 30

Tyr Ile Phe Trp Tyr Lys Gln Leu Pro Ser Lys Glu Met Ile Phe Leu

35 40 45

Ile Arg Gln Gly Ser Asp Glu Gln Asn Ala Lys Ser Gly Arg Tyr Ser

50 55 60

Val Asn Phe Lys Lys Ala Ala Lys Ser Val Ala Leu Thr Ile Ser Ala

65 70 75 80

Leu Gln Leu Glu Asp Ser Ala Lys Tyr Phe Cys Ala Leu Gly Glu

85 90 95

<210> 131

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Thr Asp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Gly Thr Arg Val Thr Val Glu Pro

1 5 10 15

<210> 132

<211> 17

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<400> 132

Leu Thr Ala Gln Leu Phe Phe Gly Lys Gly Thr Gln Leu Ile Val Glu

1 5 10 15

Pro

<210> 133

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

Ser Trp Asp Thr Arg Gln Met Phe Phe Gly Thr Gly Ile Lys Leu Phe

1 5 10 15

Val Glu Pro

<210> 134

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

Arg Pro Leu Ile Phe Gly Lys Gly Thr Tyr Leu Glu Val Gln Gln

1 5 10 15

<210> 135

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 135

Xaa Ser Gln Pro His Thr Lys Pro Ser Val Phe Val Met Lys Asn Gly

1 5 10 15

Thr Asn Val Ala Cys Leu Val Lys Glu Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Arg

20 25 30

Ile Asn Leu Val Ser Ser Lys Lys Ile Thr Glu Phe Asp Pro Ala Ile

35 40 45

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

Pro Lys Ala Ile Val His Thr Glu Lys Val Asn Met Met Ser Leu Thr
115 120 125
Val Leu Gly Leu Arg Met Leu Phe Ala Lys Thr Val Ala Val Asn Phe
130 135 140
Leu Leu Thr Ala Lys Leu Phe Phe Leu
145 150