(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년05월28일
(11) 등록번호 10-2813881
(24) 등록일자 2025년05월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/705 (2006.01) *A61K 35/17* (2025.01)
A61P 35/00 (2006.01) *C07K 14/725* (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01) *C07K 16/30* (2006.01)
C12N 5/0783 (2010.01) *C12N 9/90* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/705 (2013.01)
A61K 35/17 (2025.01)
(21) 출원번호 10-2023-7003986(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년02월14일
심사청구일자 2023년03월03일
(85) 번역문제출일자 2023년02월02일
(65) 공개번호 10-2023-0022452
(43) 공개일자 2023년02월15일
(62) 원출원 특허 10-2021-7038402
원출원일자(국제) 2014년02월14일
심사청구일자 2021년11월24일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/016527
(87) 국제공개번호 WO 2014/127261
국제공개일자 2014년08월21일
(30) 우선권주장
61/765,585 2013년02월15일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
Oncoimmunology Vol.1(9):1577-1583(2012. 12. 1.)
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 36 항

(73) 특허권자
더 리젠츠 오브 더 유니버시티 오브 캘리포니아
미국 캘리포니아주 94607-5200 오크랜드 5층 프랭클린 스트리트 1111
(72) 발명자
우 치아-용
미국 캘리포니아 94105 샌프란시스코 호손 스트리트 1 유닛 4에프
오누퍼 제임스
미국 캘리포니아 94501 알라메다 파운틴 스트리트 1032
림 웬델 에이.
미국 캘리포니아 94118 샌프란시스코 콜린스 스트리트 149
(74) 대리인
이희숙, 김석만

심사관 : 손영희

(54) 발명의 명칭 **키메라 항원 수용체 및 이의 이용 방법**

(57) 요 약

본 발명은 이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체 (CAR), 그리고 CAR를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명은 CAR을 생산하도록 유전적으로 변경된 세포를 제공한다. 본 발명의 CAR는 다양한 방법에서 이용될 수 있고, 이들 역시 제공된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C07K 14/70517 (2013.01)
C07K 14/70578 (2013.01)
C07K 16/2803 (2013.01)
C07K 16/30 (2013.01)
C12N 5/0636 (2025.01)
C12N 9/90 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)

(56) 선행기술조사문헌
Current Opinion In Immunology
Vol.21(2):215-223(2009. 4. 1.)
WO2012099973 A1
WO2011119773 A1
European Journal of Physiology,
Vol.465(3):409-417(2013. 1. 9.)

명 세 서

청구범위

청구항 1

다음을 포함하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체 (CAR):

a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드:

i) 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원;

ii) 첫 번째 조절 도메인;

iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원; 그리고

iv) 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원 및 첫 번째 조절 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고

b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드:

i) 막경유 도메인;

ii) 두 번째 조절 도메인;

iii) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원; 그리고

iv) 세포내 신호전달 도메인;

또는:

a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드:

i) 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원;

ii) 조절 도메인;

iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원;

iv) 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원 및 조절 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고

b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드:

i) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원; 그리고

ii) 세포내 신호전달 도메인.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 첫 번째 폴리펩티드는 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원 및 막경유 도메인 사이에 삽입된 힌지 영역을 포함하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원은 항체 또는 항체 단편, 리간드, 또는 수용체인 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 4

청구항 2에 있어서, 힌지 영역은 면역글로불린 IgG 힌지 영역 또는 CD8로부터 유래된 힌지인 것을 특징으로 하

는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 첫 번째와 두 번째 조절 도메인은 4-1BB (CD137), CD28, ICOS, BTLA, OX-40, CD27, CD30, GITR, HVEM, DAP10, DAP12, 그리고 CD28에서 선택되는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 6

청구항 1에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 ZAP70과 CD3-제타에서 선택되는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기초된 활성화 모티프 (ITAM)를 포함하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 이합체화 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 소형 분자 이합결합체의 존재에서 동종이합체를 형성하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 9

청구항 1에 있어서, 이합체화 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 소형 분자 이합결합체의 존재에서 이형이합체를 형성하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 이합체화 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 다음에서 선택되는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR:

a) FK506 결합 단백질 (FKBP)과 FKBP;

b) FKBP와 칼시뉴린 촉매성 아단위 A (CnA);

c) FKBP와 시클로필린;

d) FKBP와 FKBP-라파마이신 연관된 단백질 (FRB);

e) 자이라아제 B (GyrB)와 GyrB;

f) 디히드로폴레이트 환원효소 (DHFR)와 DHFR;

g) DmrB와 DmrB;

h) PYL과 ABI;

i) Cry2와 CIP;

j) GAI와 GID1.

청구항 11

청구항 1에 있어서,

i) 첫 번째와 두 번째 조절 도메인은 4-1BB로부터 유래되고;

ii) 이합체화 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원은 FKBP와 FRB이고; 그리고

ii) 신호전달 도메인은 ITAM을 포함하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 12

청구항 1에 있어서, 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원은 단일 사슬 Fv인 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 13

청구항 1에 있어서, 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원은 세포 상에, 고체 표면 상에, 또는 지질 이중층 상에 존재하는 에피토프에 결합하는 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 세포는 암 세포인 것을 특징으로 하는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR.

청구항 15

청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 생산하도록 유전적으로 변경된 포유류 세포로서, 인간 체내에 존재하는 세포 및 인간 배아를 제외한 포유류 세포.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 세포는 줄기 세포, 선조체 세포, 또는 줄기 세포 또는 선조체 세포로부터 유래된 세포인 것을 특징으로 하는 세포.

청구항 17

청구항 15에 있어서, 세포는 T 림프구 또는 NK 세포인 것을 특징으로 하는 세포.

청구항 18

청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산.

청구항 19

청구항 18에 있어서, 뉴클레오티드 서열은 T 림프구-특이적 프로모터 또는 NK 세포 특이적 프로모터에 작동 가능하게 연결된 것을 특징으로 하는 핵산.

청구항 20

청구항 18에 있어서, 핵산은 시험관내 전사된 RNA인 것을 특징으로 하는 핵산.

청구항 21

청구항 18의 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터.

청구항 22

T 림프구를 활성화하는 방법에 있어서, 상기 방법은 T 림프구를 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원과 접촉시키는 것을 포함하고, 여기서 T 림프구는 청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 생산하도록 유전적으로 변경되고, 그리고 여기서, 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원의 존재에서, 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR은 T 림프구를 이합체화하고 활성화시키고, 따라서 활성화된 T 림프구를 생산하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 항원인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 24

청구항 22에 있어서, 상기 접촉은 생체내에서 발생하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 25

청구항 22에 있어서, 활성화된 T 림프구는 표적 세포의 사멸을 매개하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 26

청구항 22에 있어서, 활성화된 T 림프구는 IL-2 및/또는 IFN-γ 을 생산하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 27

청구항 25에 있어서, 표적 세포는 암 세포인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 28

청구항 22에 있어서, 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 특이적 결합 쌍의 첫 번째 구성원은 암 세포 상에서 에피토프에 특이적인 항체인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 29

청구항 15의 세포를 만드는 방법에 있어서, 상기 방법은 청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터로 포유류 세포를 유전적으로 변경하거나, 또는 청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA로 포유류 세포를 유전적으로

변경하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 30

청구항 29에 있어서, 상기 유전자 변경은 탈체에서 수행되는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 31

청구항 29에 있어서, 세포는 T 림프구, 줄기 세포, NK 세포, 선조체 세포, 줄기 세포로부터 유래된 세포, 또는 선조체 세포로부터 유래된 세포인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 32

청구항 15에 따른 세포를 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

청구항 33

청구항 32에 있어서, 상기 이형이합체성 및 조건적으로 활성 CAR의 이합체화는 라파로그에 의해 유도된 것을 특징으로 하는 약학적 조성물.

청구항 34

숙주 세포의 활성을 조정하는 방법에 있어서, 상기 방법은 숙주 세포를 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원과 접촉시키는 것을 포함하고, 여기서 T 림프구는 청구항 1의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 생산하도록 유전적으로 변경되고, 그리고 여기서, 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원의 존재에서, 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR은 이합체화하고 숙주 세포의 최소한 하나의 활성을 조정하며, 상기 숙주 세포는 인간 체내에 존재하는 세포 및 인간 배아를 제외한 것을 특징으로 하는 방법,

청구항 35

청구항 34에 있어서, 활성은 증식, 세포 생존, 아폽토시스, 유전자 발현, 또는 면역 활성화인 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 36

청구항 34에 있어서, 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 항원인 것을 특징으로 하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **교차 참조**

[0002] 본 출원은 2013년 2월 15일자 제출된 U.S. 특허가출원 번호 61/765,585에 우선권을 주장하고, 상기 출원은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다.

[0003] **연방 정부의 지원을 받은 연구에 관한 진술**

[0004] 본 발명은 국립보건원에 의해 수여된 보조금 번호 EY016546과 GM101782 하에 정부 지원을 받아 만들어졌다. 정

부는 본 발명에서 일정한 권리를 갖는다.

[0005] **텍스트 파일로서 제공된 서열 목록의 참조로서 편입**

[0006] 서열 목록은 2014년 2월 13일자 작성되고, 그리고 153 KB의 크기를 갖는 텍스트 파일, "UCSF-464WO SeqList_ST25.txt"로서 본원에서 제공된다. 상기 텍스트 파일의 내용은 전체적으로 본원에 참조로서 편입된다.

배 경 기 술

[0007] **도입**

[0008] 세포-기초된 입양 면역요법에서, 환자로부터 단리된 면역 세포는 이들이 차후에 환자 내로 되돌려 이전된 후에, 이들 세포가 새로운 치료적 기능을 수행할 수 있게 하는 합성 단백질을 발현하도록 변형될 수 있다. 이런 합성 단백질의 실례는 키메라 항원 수용체 (CAR)이다. 현재 이용되는 CAR의 실례는 세포외 인식 도메인 (가령, 항원 결합 도메인), 막경유 도메인, 그리고 하나 또는 그 이상의 세포내 신호전달 도메인의 융합이다. 항원 포용 시에, CAR의 세포내 신호전달 부분은 면역 세포에서 활성화-관련된 반응, 예를 들면, 종양 세포 사멸을 유도하는 세포용해 분자의 방출 등을 개시할 수 있다. 하지만, 이런 CAR은 약리학적으로 제어될 수 없다. 약리학적으로 제어될 수 있는 조건적으로 활성화가능 CAR이 당분야에서 요구된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] **요약**

[0010] 본 발명은 이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체 (CAR), 그리고 이러한 CAR를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명은 CAR을 생산하도록 유전적으로 변형된 세포를 제공한다. 본 발명의 CAR은 다양한 방법에서 이용될 수 있고, 이들 역시 제공된다.

도면의 간단한 설명

[0011] **도면의 간단한 설명**

도면 1A와 1B는 구조체 #122의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 2A와 2B는 구조체 #123의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 3A와 3B는 구조체 #125의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 4는 구조체 #126의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 5A와 5B는 구조체 #168의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 6A-C는 구조체 #169의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 7A와 7B는 구조체 #170의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 8A와 8B는 구조체 #197의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 9A-C는 구조체 #206의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 10A와 10B는 구조체 #207의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 11A-C는 구조체 #199의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 12는 5개의 온-스위치 CAR 변이체에 의해 촉발된 IL-2 생산을 묘사한다.

도면 13은 대조 Jurkat 라인에 의한 IL-2 생산을 묘사한다.

도면 14는 CAR 구조체 "122 + 206"와 "197 + 206" 사이에 비교를 묘사한다.

도면 15는 온-스위치 CAR "197+206"에서 세포독성 데이터를 묘사한다.

도면 16은 CAR 구조체 "122 + 199"; "197 + 199"; 그리고 "122 + 168"을 이용한 T 세포 활성화 데이터를 묘사한다.

도면 17은 예시적인 온-스위치 CAR의 계통도 표시이다.

도면 18A와 18B는 다양한 예시적인 온-스위치 CAR을 묘사한다.

도면 19A-G는 인간 메소텔린을 인식하는 3가지 상이한 온-스위치 CAR 변이체에 의해 촉발된 IL-2 생산을 묘사한다.

도면 20A-C는 지베렐린산 반응성 이합체화 쌍을 갖는 온-스위치 CAR 변이체에 의해 촉발된 IL-2 생산을 묘사한다.

도면 21A-D는 다양한 동시자극성 도메인을 갖는 예시적인 온-스위치 CAR과 전통적인 CAR을 묘사한다.

도면 22A와 22B는 구조체 #270의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 23A와 23B는 구조체 #300의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 24A와 24B는 구조체 #336의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 25A와 25B는 구조체 #337의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 26A와 26B는 구조체 #357의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 27A와 27B는 구조체 #365의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 28A와 28B는 구조체 #366의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 29A와 29B는 구조체 #367의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 30A와 30B는 구조체 #398의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 31A와 31B는 구조체 #399의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 32A와 32B는 구조체 #400의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

도면 33A와 33B는 구조체 #358의 도메인의 뉴클레오티드와 아미노산 서열을 제공한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] **정의**

[0013] 본원에서 교체가능하게 이용된 용어 "폴리뉴클레오티드"와 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드 (리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드)의 중합성 형태를 지칭한다. 따라서, 이러한 용어에는 단일-, 이중-, 또는 복수 가닥 DNA 또는 RNA, 유전체 DNA, cDNA, DNA-RNA 하이브리드, 또는 퓨린과 피리미딘 염기 또는 다른 자연, 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된, 비자연, 또는 유도체화된 뉴클레오티드 염기를 포함하는 중합체가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0014] 용어 "항체"와 "면역글로불린"은 임의의 아이소타입의 항체 또는 면역글로불린, Fab, Fv, scFv, 그리고 Fd 단편이 포함되지만 이들에 한정되지 않는, 항원에 대한 특이적 결합을 유지하는 항체의 단편, 키메라 항체, 인간화 항체, 단일 사슬 항체, 그리고 항체와 비항체 단백질의 항원 결합 부분을 포함하는 융합 단백질을 포함한다.

[0015] "항체 단편"은 무손상 항체의 부분, 예를 들면, 무손상 항체의 항원 결합 또는 가변 영역을 포함한다. 항체 단편의 실례는 Fab, Fab', $F(ab')_2$, 그리고 Fv 단편; 디아바디; 선형 항체 (Zapata et al., Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995)); 단일 사슬 항체 분자; 그리고 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체를 포함한다. 항체의 파파인 소화는 "Fab" 단편으로 불리는 2개의 동일한 항원 결합 단편을 생산하고, 이들은 각각 단일 항원 결합 부위를 갖고, 그리고 쉽게 결정화하는 능력을 반영하는 명칭인 잔여 "Fc" 단편을 생산한다. 펩신 처리는 $F(ab')_2$ 단편을 산출하는데, 이것은 2개의 항원 결합 부위를 갖고 항원을 여전히 교차연결할 수 있다.

[0016] "단일 사슬 Fv" 또는 "sFv" 항체 단편은 항체의 V_H와 V_L 도메인을 포함하고, 여기서 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 사슬에서 존재한다. 일부 구체예에서, Fv 폴리펩티드는 V_H와 V_L 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더욱 포함하는데, 이것은 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. sFv의 재고를 위해, *Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)*를 참조한다.

[0017] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "친화성"은 2가지 작용제의 가역성 결합에 대한 평형 상수를 지칭하고 해리 상수 (Kd)로서 표시된다. 친화성은 관련 없는 아미노산 서열에 대한 항체의 친화성보다 최소한 1-배 크거나, 최소한 2-배 크거나, 최소한 3-배 크거나, 최소한 4-배 크거나, 최소한 5-배 크거나, 최소한 6-배 크거나, 최소한 7-배 크거나, 최소한 8-배 크거나, 최소한 9-배 크거나, 최소한 10-배 크거나, 최소한 20-배 크거나, 최소한 30-배 크거나, 최소한 40-배 크거나, 최소한 50-배 크거나, 최소한 60-배 크거나, 최소한 70-배 크거나, 최소한 80-배 크거나, 최소한 90-배 크거나, 최소한 100-배 크거나, 또는 최소한 1000-배 크거나, 또는 그 이상이다. 표적 단백질에 대한 항체의 친화성은 예로서, 약 100 나노몰 (nM) 내지 약 0.1 nM, 약 100 nM 내지 약 1 피코몰 (pM), 또는 약 100 nM 내지 약 1 펨토몰 (fM) 또는 그 이상일 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "항원 항체결합력"은 희석 후에 해리에 대한 2개 또는 그 이상의 작용제의 복합체의 내성을 지칭한다. 용어 "면역반응성" 및 "우선적으로 결합한다"는 항체 및/또는 항원 결합 단편에 대하여 본원에서 교체가능하게 이용된다.

[0018] 용어 "결합하는"은 예로서, 염 가교와 수분 가교와 같은 상호작용을 비롯하여, 공유, 정전, 소수성, 그리고 이온성 및/또는 수소-결합 상호작용으로 인해 두 분자 사이에 직접적인 연관을 지칭한다. 비특이적 결합은 약 10^{-7} M보다 적은 친화성으로 결합, 예를 들면, 10^{-6} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M 등의 친화성으로 결합을 지칭할 것이다.

[0019] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "힌지 영역"은 구조적 유연성 및 측면에 접하는 폴리펩티드 영역에 이격을 제공하는 유연한 폴리펩티드 연결기 영역 (또한, 본원에서 "힌지" 또는 "스페이서"로서 지칭됨)을 지칭하고, 그리고 자연 또는 합성 폴리펩티드로 구성될 수 있다. 면역글로불린 (가령, IgG1)으로부터 유래된 "힌지 영역"은 일반적으로, 인간 IgG1의 Glu_{216}에서부터 Pro_{230}까지 뻗어있는 것으로 규정된다 (Burton (1985) *Molec. Immunol.*, 22:161-206). 다른 IgG 아이소타입의 힌지 영역이 중쇄간 이황화 (S-S) 결합을 형성하는 첫 번째와 마지막 시스테인 잔기를 동일한 위치 내에 배치함으로써 IgG1 서열과 함께 정렬될 수 있다. 힌지 영역은 U.S. 특허 번호 5,677,425에서 설명된 바와 같이 개조된 힌지 영역이 포함되지만 이에 한정되지 않는, 자연 발생 또는 비자연 발생 힌지 영역일 수 있다. 힌지 영역은 CH1 도메인의 것과 상이한 부류 또는 하위부류의 항체로부터 유래된 완전한 힌지 영역을 포함할 수 있다. 용어 "힌지 영역"은 또한, 유연성 및 측면 영역에 이격을 제공하는데 있어서 유사한 기능을 제공하는 CD8 및 다른 수용체로부터 유래된 영역을 포함할 수 있다.

[0020] "단리된" 폴리펩티드는 자연 환경의 성분으로부터 확인되고 분리되고 및/또는 회수된 것이다. 자연 환경의 오염체 성분은 상기 폴리펩티드에 대한 진단적 또는 치료적 이용을 간섭하는 물질이고, 그리고 효소, 호르몬, 그리고 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 (1) 로리법에 의해 결정될 때 항체의 중량으로 90%보다 크게, 95%보다 크게, 또는 98%보다 크게, 예를 들면, 중량으로 99%보다 크게, (2) 회전 컵 배열결정장치의 이용에 의해 N 말단 또는 내부 아미노산 서열의 최소한 15개 잔기를 획득하는데 충분한 정도까지, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 은 염색을 이용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 황산도데실나트륨-폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (SDS-PAGE)에 의해 균질성까지 정제될 것이다. 단리된 폴리펩티드는 재조합 세포 내에서 원지에서 폴리펩티드를 포함하는데, 그 이유는 폴리펩티드의 자연 환경의 최소한 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문이다. 일부 경우에, 단리된 폴리펩티드는 최소한 하나의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.

[0021] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "면역 세포"는 일반적으로, 골수 내에서 생산된 조혈 줄기 세포 (HSC)로부터 유래되는 백혈구 (백혈구)를 포함한다. "면역 세포"는 예로서, 림프구 (T 세포, B 세포, 자연 킬러 (NK) 세포) 및 골수성-유래된 세포 (호중구, 호산구, 호염기구, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포)를 포함한다.

[0022] "T 세포"는 T-보조 세포 ($CD4^+$ 세포), 세포독성 T-세포 ($CD8^+$ 세포), T-조절 세포 (Treg) 및 감마-델타 T 세포를 비롯하여, CD3을 발현하는 모든 유형의 면역 세포를 포함한다.

[0023] "세포독성 세포"는 $CD8^+$ T 세포, 자연-킬러 (NK) 세포, 그리고 호중구를 포함하고, 이들 세포는 세포독성 반응을 매개할 수 있다.

[0024] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "줄기 세포"는 일반적으로, 만능성 또는 다능성 줄기 세포를 포함한다. "줄기 세포"는 예로서, 배아 줄기 세포 (ES); 중간엽 줄기 세포 (MSC); 유도된-만능성 줄기 세포 (iPS); 그리고 수임된 선조체 세포 (조혈 줄기 세포 (HSC); 골수 유래 세포 등)를 포함한다.

[0025] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "치료", "치료하는" 등은 원하는 약리학적 및/또는 생리학적 효과를 획득하는 것을 지칭한다. 효과는 질환 또는 이의 증상을 완전하게 또는 부분적으로 예방한다는 관점에서 예방적 및/또는 질환 및/또는 질환에 기인한 부작용에 대한 부분적인 또는 완전한 치유의 관점에서 치료적일 수 있다. 본원에서

이용된 바와 같은 "치료"는 포유동물, 예를 들면, 인간에서 질환의 임의의 치료를 포괄하고, 그리고 (a) 질환에 대한 소인이 있지만 이를 앓는 것으로 아직 진단되지 않은 개체에서 질환이 발생하는 것을 예방하거나; (b) 질환을 저해하거나, 다시 말하면, 이의 발달을 중지시키거나; 그리고 (c) 질환을 경감하는, 다시 말하면, 질환의 관해를 유발하는 것을 포함한다.

[0026] 본원에서 교체가능하게 이용된 용어 "개인", "개체", "숙주"와 "환자"는 뮤린 (가령, 쥐, 생쥐), 토끼류 (가령, 토끼), 비-인간 영장류, 인간, 개, 고양이, 유제류 (가령, 말, 소, 양, 돼지, 염소) 등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 포유동물을 지칭한다.

[0027] "치료 효과량" 또는 "유효한 양"은 질환을 치료하기 위해 포유동물 또는 다른 개체에 투여될 때, 상기 질환에 대한 이런 치료를 달성하는데 충분한 작용제의 양, 또는 2가지 작용제의 합동된 양을 지칭한다. "치료 효과량"은 작용제(들), 질환과 이의 심각도, 그리고 치료되는 개체의 연령, 체중 등에 따라 변할 것이다.

[0028] 본 발명을 더욱 설명하기에 앞서, 본 발명은 설명된 특정 구체예에 한정되지 않고, 따라서 당연히 변할 수 있는 것으로 이해된다. 또한, 본원에서 이용된 용어는 단지 특정 구체예를 설명하는 것을 목적으로 하고 제한하는 것으로 의도되지 않는 것으로 이해되는데, 그 이유는 본 발명의 범위가 첨부된 특허청구범위에 의해서만 한정될 것이기 때문이다.

[0029] 값의 범위가 제공되는 경우에, 문맥에서 달리 명시되지 않으면, 상기 범위의 상한선과 하한선 사이에 하한선의 단위의 1/10까지 각 개재성 값, 그리고 언급된 범위에서 임의의 다른 언급된 또는 개재성 값은 본 발명의 범위 안에 포괄되는 것으로 이해된다. 이들 더욱 작은 범위의 상하선과 하한선은 더욱 작은 범위 내에 독립적으로 포함될 수 있고, 그리고 또한, 본 발명의 범위 안에 포괄되고, 언급된 범위 내에 임의의 특정적으로 배제된 한계에 종속된다. 언급된 범위가 한계 중에서 한쪽 또는 양쪽을 포함하는 경우에, 이들 포함된 한계의 한쪽 또는 양쪽을 배제하는 범위 역시 본 발명에서 포함된다.

[0030] 달리 정의되지 않으면, 본원에서 이용된 모든 기술 용어와 과학 용어는 본 발명이 속하는 당해 분야의 평균적 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 비록 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법과 재료 역시 본 발명의 실시 또는 시험에 이용될 수 있지만, 바람직한 방법과 재료가 하기에 설명된다. 본원에서 언급된 모든 간행물은 이들 간행물이 관련하여 인용되는 방법 및/또는 물질을 개시하고 설명하기 위해 본원에 참조로서 편입된다.

[0031] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함하는 것으로 유의되어야 한다. 따라서, 예로서, "키메라 항원 수용체"에 대한 언급은 복수의 이런 키메라 항원 수용체를 포함하고, 그리고 "이합결합체-결합 쌍"에 대한 언급은 하나 또는 그 이상의 이합결합체-결합 쌍 및 당업자에게 공지된 이의 등가물에 대한 언급을 포함하고, 기타 등등이다. 청구항은 임의의 임의선택적 원소를 배제하도록 작성될 수 있는 것으로 더욱 유의된다. 따라서, 이러한 진술은 청구항 원소의 열거와 관련하여 "오로지", "단독으로" 등과 같은 배타적 용어의 이용, 또는 "부정적인" 제한의 이용에 대한 선행 기초로서 역할하는 것으로 의도된다.

[0032] 명료함을 위해, 별개의 구체예의 문맥에서 설명되는 본 발명의 일정한 특질은 또한, 단일 구체예에서 합동으로 제공될 수도 있는 것으로 인지된다. 반대로, 간결성을 위해, 단일 구체예의 문맥에서 설명되는 본 발명의 다양한 특질은 또한, 개별적으로 또는 임의의 적절한 하위조합에서 제공될 수도 있다. 본 발명에 관계하는 이들 구체예의 모든 조합은 본 발명에 의해 특이적으로 포섭되고, 그리고 마치 각각의 모든 조합이 개별적으로 및 명시적으로 개시되는 것처럼 본원에서 개시된다. 이에 더하여, 다양한 구체예 및 이들의 원소의 모든 하위조합 역시 본 발명에 의해 특이적으로 포섭되고, 그리고 마치 각각의 모든 이런 하위조합이 본원에서 개별적으로 및 명시적으로 개시되는 것처럼 본원에서 개시된다.

[0033] 본원에서 논의된 간행물은 본 출원의 출원일에 앞서 오로지 그들의 개시 목적으로만 제공된다. 본원에서 어떤 것도 본 발명이 선행 발명에 의해서 이런 공개보다 선행할 권리가 없다는 것을 시인하는 것으로 해석되지 않는다. 게다가, 제공된 공개의 일자는 실제 공개 일자와 상이할 수 있고, 이것은 독립적으로 확증될 필요가 있을 수 있다.

[0034] **상세한 설명**

[0035] 본 발명은 이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체 (CAR), 그리고 이러한 CAR를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명은 CAR을 생산하도록 유전적으로 변형된 세포를 제공한다. 본

발명의 CAR은 다양한 방법에서 이용될 수 있고, 이들 역시 제공된다.

[0036] **이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체.**

[0037] 본 발명은 이형이합체성, 조건적으로 활성 키메라 항원 수용체를 제공하는데, 이것은 단순함을 위해, 본원에서 "CAR"로서 지칭된다.

[0038] 일부 구체예에서, 본 발명의 CAR은 다음을 포함한다: a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드: i) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인); ii) 첫 번째 조절 도메인; iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원; 그리고 iv) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인) 및 첫 번째 조절 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고 b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드: i) 막경유 도메인; ii) 두 번째 조절 도메인; iii) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원; 그리고 iv) 세포내 신호전달 도메인. 조절 도메인은 동시자극성 도메인일 수 있다.

[0039] 일부 구체예에서, 본 발명의 CAR은 다음을 포함한다: a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드: i) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인); ii) 첫 번째 동시자극성 도메인; iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); 그리고 iv) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인) 및 첫 번째 동시자극성 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고 b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드: i) 막경유 도메인; ii) 두 번째 동시자극성 도메인; iii) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); 그리고 iv) 세포내 신호전달 도메인.

[0040] 일부 구체예에서, 본 발명의 CAR은 다음을 포함한다: a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드: i) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인); ii) 조절 도메인; iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); iv) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인) 및 조절 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고 b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드: i) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); 그리고 ii) 세포내 신호전달 도메인. 조절 도메인은 동시자극성 도메인일 수 있다.

[0041] 일부 구체예에서, 본 발명의 CAR은 다음을 포함한다: a) 다음을 포함하는 첫 번째 폴리펩티드: i) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인); ii) 동시자극성 도메인; iii) 이합체화 쌍의 첫 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); iv) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인) 및 동시자극성 도메인 사이에 삽입된 막경유 도메인; 그리고 b) 다음을 포함하는 두 번째 폴리펩티드: i) 이합체화 쌍의 두 번째 구성원 (가령, 이합체화체-결합 쌍); 그리고 ii) 세포내 신호전달 도메인.

[0042] 주제 CAR의 실례는 도면 17에서 개략적으로 대표된다. 본 발명의 CAR은 진핵 세포, 예를 들면, 포유류 세포의 혈장 막 내에 존재할 수 있는데, 여기서 적합한 포유류 세포에는 세포독성 세포, T 림프구, 줄기 세포, 줄기 세포의 자손, 선조체 세포, 선조체 세포의 자손, 그리고 NK 세포가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 본 발명의 CAR은 1) CAR 내에 이합체화체-결합 쌍의 첫 번째와 두 번째 구성원에 결합하거나, 또는 만약 그렇지 않으면, 이합체의 첫 번째와 두 번째 구성원의 이합체화를 유도하는 이합체화 작용제; 그리고 2) 특이적 결합 쌍의 구성원 (가령, 항원 결합 도메인)에 결합하는 인자, 예를 들면, CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원의 존재에서 활성이다. 특이적 결합 쌍의 구성원에 결합하는 인자는 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원이다. 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 가용성 (가령, 세포에 결합되지 않는) 인자; 세포, 예를 들면, 표적 세포의 표면 상에 존재하는 인자; 고체 표면 상에 제공된 인자; 지질 이중층 내에 존재하는 인자; 기타 등등일 수 있다. 특이적 결합 쌍의 구성원이 항체이고, 그리고 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원이 항원인 경우에, 항원은 가용성 (가령, 세포에 결합되지 않는) 항원; 세포, 예를 들면, 표적 세포의 표면 상에 존재하는 항원; 고체 표면 상에 제공된 항원; 지질 이중층 내에 존재하는 항원; 기타 등등일 수 있다.

[0043] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 특이적-결합 쌍의 구성원에 결합하는 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원 (가령, CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원) 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 세포에서 최소한 하나의 핵산의 발현을 증가시킨다. 가령, 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 세포에서 최소한 하나의 핵산의 발현을 항원 및/또는 이합체화 작용제의 부재에서 핵산의 전사의 수준과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배보다 많이 증가시킨다.

[0044] 실례로서, 본 발명의 CAR의 두 번째 폴리펩티드는 면역수용체 티로신-기초된 활성화 모티프 (ITAM)-내포 세포내 신호전달 폴리펩티드를 포함할 수 있다; 이런 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때,

그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 활성화된 T 세포의 핵 인자 (NFAT)-의존성 전사를 증가시킨다. NFAT-의존성 전사는 예로서, NFATc1, NFATc2, NFATc3, NFATc4, NFAT5; AP-1; Sp1; NKκB; 기타 등등을 비롯한 NFAT 패밀리의 임의의 구성원에 의해 유도된 전사를 포함한다.

[0045] 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 일부 경우에, 상기 세포에 의한 하나 또는 그 이상의 사이토킨의 증가된 생산을 유발할 수 있다. 가령, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 상기 세포에 의한 사이토킨의 생산을 항원 및/또는 이합체화 작용제의 부재에서 상기 세포에 의해 생산된 사이토킨의 양과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배보다 많이 증가시킬 수 있다. 생산이 증가될 수 있는 사이토킨에는 인터페론, 예를 들면, IL-2, 인터페론 감마 (IFN-γ), 종양 괴사 인자-알파 (TNF-α), IL-15, IL-12, IL-4, IL-5, IL-10; 케모킨; 성장 인자; 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0046] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 상기 세포에서 핵산의 전사에서 증가 및 상기 세포에 의한 사이토킨의 생산에서 증가 둘 모두를 유발할 수 있다.

[0047] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, CAR의 첫 번째 폴리펩티드의 항원 결합 도메인이 결합하는 항원을 세포 표면 상에 발현하는 표적 세포를 향한 상기 세포에 의한 세포독성 활성을 유발한다. 가령, 진핵 세포가 세포독성 세포 (가령, NK 세포 또는 세포독성 T 림프구)인 경우에, 본 발명의 CAR은 상기 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, CAR의 첫 번째 폴리펩티드의 항원 결합 도메인이 결합하는 항원을 세포 표면 상에 발현하는 표적 세포를 향한 상기 세포에 의한 세포독성 활성을 증가시킨다. 가령, 진핵 세포가 NK 세포 또는 T 림프구인 경우에, 본 발명의 CAR은 상기 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 상기 세포의 세포독성 활성을 이합체화 작용제의 부재에서 상기 세포의 세포독성 활성과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배보다 많이 증가시킨다.

[0048] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 다른 CAR 활성화 관련된 이벤트, 예를 들면, 증식과 확장 (증가된 세포 분열 또는 항-아폽토시스 반응으로 인해)을 유발할 수 있다.

[0049] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포의 혈장 막 내에 존재할 때, 그리고 CAR의 항원 결합 도메인에 결합하는 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화될 때, 다른 CAR 활성화 관련된 이벤트, 예를 들면, 세포내 신호전달 조정, 세포 분화, 또는 세포 사멸을 유발할 수 있다.

[0050] 본 발명의 CAR은 진핵 세포 막 내에 존재할 수 있고, 여기서 CAR의 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드는 서로에 공유 연결되지 않는다. 본 발명의 CAR은 진핵 세포 막 내에서 단일 이형이합체로서 존재할 수 있는데, 이것은 막 내에 임의의 다른 폴리펩티드에 공유 연결되지 않는다. 대안으로, 본 발명의 첫 번째 CAR은 진핵 세포 막 내에서 이형이합체로서 존재할 수 있고, 이것은 본 발명의 두 번째 CAR에 공유적으로 또는 비공유적으로 연결된다. 일부 경우에, 첫 번째와 두 번째 CAR은 첫 번째 CAR의 첫 번째 폴리펩티드와 두 번째 CAR의 첫 번째 폴리펩티드 둘 모두에서 존재하는 힌지 영역 내에 존재하는 시스테인 사이에 형성된 이황화 결합을 거쳐 공유 연결된다.

[0051] 일부 경우에, 본 발명의 CAR은 진핵 세포 막 내에 존재할 수 있고, 여기서 CAR의 첫 번째 폴리펩티드는 항체 단편을 포함하고 CAR의 두 번째 폴리펩티드는 사이토킨 수용체로부터 유래된 신호 전달 도메인을 포함하고, 따라서 이합체화 시에, CAR은 이형이합체성-시그날로바디 CAR, 예를 들면, 최소한 2개의 독립된 폴리펩티드로 구성된 시그날로바디를 나타낼 수 있다. "시그날로바디"는 당분야에서 알려져 있는 바와 같이, 항체 단편 및 사이토킨 수용체로부터 유래된 신호 전달 도메인으로 구성된 단일 키메라 거대분자이다. 일정한 사례에서, 본 발명의 이형이합체성-시그날로바디 CAR은 진핵 세포의 세포 막 내에 존재하고, 이합체화체에 의해 이합화되고, 그리고 항원, 예를 들면, 소중합화된 항원에 의해 활성화될 때, 이형이합체성-시그날로바디 CAR의 올리고머화를 유도할 수 있다. 이형이합체성-시그날로바디 CAR의 이런 리간드-유도된 올리고머화는 신호 전달을 활성화시킬 수 있고, 예를 들면, 증가시킬 수 있고, 또는 영속시킬 수 있고, 예를 들면, 유지할 수 있다, 가령, 이형이합체성-시그날로바디 CAR의 리간드-유도된 올리고머화는 세포 반응을 이끌어내는 신호를 전송할 수 있다. 일부 경우에, 복수

의 이형이합체성-시그날로바디 CAR이 원하는 세포 반응을 이끌어내기 위해 조합적으로 활용될 수 있다.

[0052] 특이적 결합 쌍의 구성원

[0053] 본 발명의 CAR은 특이적 결합 쌍의 구성원을 포함한다. 특이적 결합 쌍에는 항원-항체 결합 쌍; 리간드-수용체 결합 쌍; 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 따라서, 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 특이적 결합 쌍의 구성원은 항원; 항체; 리간드; 그리고 리간드-결합 수용체를 포함한다.

[0054] ***항원 결합 도메인***

[0055] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 항원 결합 도메인은 임의의 항원 결합 폴리펩티드일 수 있고, 매우 다양한 것들이 당분야에서 공지된다. 일부 경우에, 항원 결합 도메인은 단일 사슬 Fv (scFv)이다. 다른 항체 기초된 인식 도메인 (cAb VHH (낙타 항체 가변 도메인)와 인간화 이형, IgNAR VH (상어 항체 가변 도메인)와 인간화 이형, sdAb VH (단일 도메인 항체 가변 도메인) 및 "낙타화" 항체 가변 도메인이 이용에 적합하다. 일부 경우에, T 세포 수용체 (TCR) 기초된 인식 도메인, 예를 들면, 단일 사슬 TCR (scTv, 단일 사슬 2개-도메인 TCR 내포 VαVβ) 또한 이용에 적합하다.

[0056] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 항원 결합 도메인은 다양한 항원 결합 특이성을 가질 수 있다. 일부 경우에, 항원 결합 도메인은 암 세포에 의해 발현되는 (합성되는) 항원, 다시 말하면, 암 세포 연관된 항원에서 존재하는 에피토프에 특이적이다. 암 세포 연관된 항원은 예로서, 유방암 세포, B 세포 림프종, 호지킨 림프종 세포, 난소암 세포, 전립선암 세포, 중피종, 폐암 세포 (가령, 소세포 폐암 세포), 비호지킨 B-세포 림프종 (B-NHL) 세포, 난소암 세포, 전립선암 세포, 중피종 세포, 폐암 세포 (가령, 소세포 폐암 세포), 흑색종 세포, 만성 림프성 백혈병 세포, 급성 림프구 백혈병 세포, 신경모세포종 세포, 신경교종, 교모세포종, 수모세포종, 대장암 세포 등과 연관된 항원일 수 있다. 암 세포 연관된 항원은 또한, 비암성 세포에 의해 발현될 수 있다.

[0057] 주제 CAR의 항원 결합 도메인이 결합할 수 있는 항원의 무제한적 실례는 예로서, CD19, CD20, CD38, CD30, Her2/neu, ERBB2, CA125, MUC-1, 전립선-특이적 막 항원 (PSMA), CD44 표면 부착 분자, 메소텔린, 암배아 항원 (CEA), 표피 성장 인자 수용체 (EGFR), EGFRvIII, 혈관 내피 성장 인자 수용체-2 (VEGFR2), 고분자량-흑색종 연관된 항원 (HMW-MAA), MAGE-A1, IL-13R-a2, GD2, 기타 등등을 포함한다.

[0058] ***리간드***

[0059] 일부 경우에, 주제 CAR에서 이용에 적합한 특이적 결합 쌍의 구성원은 수용체에 대한 리간드이다. 리간드에는 사이토킨 (가령, IL-13 등); 성장 인자 (가령, 헤레굴린; 혈관 내피 성장 인자 (VEGF); 기타 등등); 인테그린-결합 펩티드 (가령, 서열 Arg-Gly-Asp를 포함하는 펩티드); 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0060] 주제 CAR에서 특이적 결합 쌍의 구성원이 리간드인 경우에, CAR은 이합체화체 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원 둘 모두의 존재에서 활성화될 수 있는데, 여기서 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 리간드에 대한 수용체이다. 가령, 리간드가 VEGF인 경우에, 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 가용성 VEGF 수용체를 비롯한 VEGF 수용체일 수 있다. 다른 실례로서, 리간드가 헤레굴린인 경우에, 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원은 Her2일 수 있다.

[0061] ***수용체***

[0062] 전술한 바와 같이, 일부 경우에, 주제 CAR 내에 포함되는 특이적 결합 쌍의 구성원은 수용체, 예를 들면, 리간드에 대한 수용체, 공동수용체 등이다. 수용체는 수용체의 리간드-결합 단편일 수 있다. 적합한 수용체에는 성장 인자 수용체 (가령, VEGF 수용체); 킬러 세포 렉틴-유사 수용체 아과 K, 구성원 1 (NKG2D) 폴리펩티드 (MICA, MICB와 ULB6에 대한 수용체); 사이토킨 수용체 (가령, IL-13 수용체; IL-2 수용체; 등); Her2; CD27; 자연 세포독성 수용체 (NCR) (가령, NKP30 (NCR3/CD337) 폴리펩티드 (HLA-B-연관된 전사체 3 (BAT3)과 B7-H6에 대한 수용체); 등); 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0063] 힌지 영역

[0064] 일부 경우에, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드는 힌지 영역 (또한, "스페이서"로서 본원에서 지칭됨)을 포함하는데, 여기서 힌지 영역은 항원 결합 도메인 및 막경유 도메인 사이에 삽입된다. 일부 경우에, 힌지 영역은 면역글로불린 중쇄 힌지 영역이다. 일부 경우에, 힌지 영역은 수용체로부터 유래된 힌지 영역 폴리펩티드 (가령, CD8-유래된 힌지 영역)이다.

[0065] 힌지 영역은 약 4개 아미노산 내지 약 50개 아미노산, 예를 들면, 약 4개 aa 내지 약 10개 aa, 약 10개 aa 내지

약 15개 aa, 약 15개 aa 내지 약 20개 aa, 약 20개 aa 내지 약 25개 aa, 약 25개 aa 내지 약 30개 aa, 약 30개 aa 내지 약 40개 aa, 또는 약 40 aa개 내지 약 50개 aa의 길이를 가질 수 있다.

[0066] 적합한 스페이서는 쉽게 선별될 수 있고, 그리고 4개 아미노산 내지 10개 아미노산, 5개 아미노산 내지 9개 아미노산, 6개 아미노산 내지 8개 아미노산, 또는 7개 아미노산 내지 8개 아미노산을 비롯한 다수의 적합한 길이, 예를 들면, 1개 아미노산 (가령, Gly) 내지 20개 아미노산, 2개 아미노산 내지 15개 아미노산, 3개 아미노산 내지 12개 아미노산 중에서 한 가지를 가질 수 있고, 그리고 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개 아미노산일 수 있다.

[0067] 예시적인 스페이서는 글리신 중합체 $(G)_n$, 글리신-세린 중합체 (가령, $(GS)_n$, $(GSGGS)_n$ (서열 번호: 37) 및 $(GGGS)_n$ (서열 번호: 38) 포함, 여기서 n은 최소한 1의 정수이다), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 그리고 당분야에서 공지된 다른 유연한 링커를 포함한다. 글리신과 글리신-세린 중합체가 이용될 수 있다; Gly와 Ser 둘 모두 상대적으로 비구조화되고, 그리고 이런 이유로, 성분 사이에 중성 밧줄로서 역할할 수 있다. 글리신 중합체가 이용될 수 있다; 글리신은 알라닌보다 훨씬 많이 파이-프사이 (phi-psi) 공간에 접근하고, 그리고 더욱 긴 측쇄를 갖는 잔기보다 훨씬 적게 한정된다 (Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)를 참조한다). 예시적인 스페이서는 GGSG (서열 번호:39), GGSGG (서열 번호:40), GSGSG (서열 번호:41), GSGGG (서열 번호:42), GGGSG (서열 번호:43), GSSSG (서열 번호:44), 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0068] 일부 경우에, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 힌지 영역은 최소한 하나의 시스테인을 포함한다. 가령, 일부 경우에, 힌지 영역은 서열 Cys-Pro-Pro-Cys를 포함할 수 있다. 존재하면, 첫 번째 CAR의 힌지 영역에서 시스테인은 두 번째 CAR에서 힌지 영역과 이황화 결합을 형성하는데 가용할 수 있다.

[0069] 면역글로불린 힌지 영역 아미노산 서열은 당분야에서 공지된다; 가령, Tan et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:162; 그리고 Huck et al. (1986) *Nucl. Acids Res.* 14:1779를 참조한다. 무제한적 실례로서, 면역글로불린 힌지 영역은 다음의 아미노산 서열 중에서 한 가지를 포함할 수 있다: DKTHT (서열 번호:45); CPPC (서열 번호:46); CPEPKSCDTPPPCPR (서열 번호:47) (가령, Glaser et al. (2005) *J. Biol. Chem.* 280:41494를 참조한다); ELKTPLGDTTHT (서열 번호:48); KSCDKTHTCP (서열 번호:49); KCCVDCP (서열 번호:50); KYGPPCP (서열 번호:51); EPKSCDKTHTCPPCP (서열 번호:52) (인간 IgG1 힌지); ERKCCVECPPCP (서열 번호:53) (인간 IgG2 힌지); ELKTPLGDTTHTCPRCP (서열 번호:54) (인간 IgG3 힌지); SPNMVPHAHHAQ (서열 번호:55) (인간 IgG4 힌지); 기타 등등.

[0070] 힌지 영역은 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4, 힌지 영역의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 힌지 영역은 야생형 (자연발생) 힌지 영역과 비교하여, 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환 및/또는 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 가령, 인간 IgG1 힌지의 His_{229}는 Tyr로 치환될 수 있고, 따라서 힌지 영역은 서열 EPKSCDKTYTCPPCP (서열 번호:52)를 포함한다; 가령, Yan et al. (2012) *J. Biol. Chem.* 287:5891을 참조한다.

[0071] 힌지 영역은 인간 CD8로부터 유래된 아미노산 서열을 포함할 수 있다; 가령, 힌지 영역은 아미노산 서열: TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호:56), 또는 이의 변이체를 포함할 수 있다.

[0072] 막경유 도메인

[0073] 본 발명의 CAR의 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드는 진핵 세포 막 내로 삽입을 위한 막경유 도메인을 포함한다. 첫 번째 폴리펩티드의 막경유 도메인은 항원 결합 도메인 및 동시자극성 도메인 사이에 삽입된다. 첫 번째 폴리펩티드가 힌지 영역을 포함하는 경우에, 막경유 도메인은 첫 번째 폴리펩티드가 아미노 말단 (N 말단)에서 카르복실 말단 (C 말단)으로 다음의 순서를 포함하도록, 힌지 영역 및 동시자극성 도메인 사이에 삽입된다: 항원 결합 도메인; 힌지 영역; 막경유 도메인; 첫 번째 동시자극성 도메인; 그리고 이합체화체-결합 쌍의 첫 번째 구성원.

[0074] 두 번째 폴리펩티드의 막경유 도메인은 두 번째 폴리펩티드가 N 말단에서 C 말단으로 다음의 순서를 포함하도록, 폴리펩티드의 N 말단에 있거나 또는 이와 가깝게 있다: 막경유 도메인; 두 번째 동시자극성 도메인; 이합체화체-결합 쌍의 두 번째 구성원; 그리고 세포내 신호전달 도메인.

[0075] 진핵 (가령, 포유류) 세포의 세포막 내로 폴리펩티드의 삽입을 제공하는 임의의 막경유 (TM) 도메인이 이용에 적합하다. 한 가지 무제한적 실례로서, TM 서열 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)이 이용될 수 있다. 적합한 TM 서열의 추가 무제한적 실례는 다음을 포함한다: a) CD8 베타 유래된: LGLLVAGVLVLLVSLGVAIHLCC (서열 번호:57); b) CD4 유래된: ALIVLGGVAGLLLFIGLGIFFCVRC (서열 번호:58); c) CD3 제타 유래된:

LCYLLDGILFIYGVILTALFLRV (서열 번호:59); d) CD28 유래된: WVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWV (서열 번호:60); e) CD134 (OX40) 유래된: VAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLL (서열 번호:61); 그리고 f) CD7 유래된: ALPAALAVISFLLGLGLGVACVLA (서열 번호:62).

[0076] 링커

[0077] 일부 경우에, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드는 임의의 2개의 인접한 도메인 사이에 링커를 포함한다. 가령, 링커는 막경유 도메인 및 첫 번째 폴리펩티드의 첫 번째 동시자극성 도메인 사이에 배치될 수 있다. 다른 실례로서, 링커는 첫 번째 동시자극성 도메인 및 첫 번째 폴리펩티드의 이합체화체-결합 쌍의 첫 번째 구성원 사이에 배치될 수 있다. 다른 실례로서, 링커는 막경유 도메인 및 두 번째 폴리펩티드의 두 번째 동시자극성 도메인 사이에 배치될 수 있다. 다른 실례로서, 링커는 두 번째 동시자극성 도메인 및 두 번째 폴리펩티드의 이합체화체-결합 쌍의 두 번째 구성원 사이에 배치될 수 있다. 다른 실례로서, 링커는 이합체화체-결합 쌍의 두 번째 구성원 및 두 번째 폴리펩티드의 세포내 신호전달 도메인 사이에 배치될 수 있다.

[0078] 링커 펩티드는 다양한 아미노산 서열 중에서 한 가지를 가질 수 있다. 단백질은 비록 다른 화학적 연쇄가 배제되지 않지만, 스페이서 펩티드, 일반적으로 유연한 성격의 스페이서 펩티드에 의해 결합될 수 있다. 링커는 길이에서 약 6개와 약 40개 아미노산 사이에, 또는 길이에서 약 6개와 약 25개 아미노산 사이에 펩티드일 수 있다. 이들 링커는 단백질을 연계하는 합성, 링커-인코딩 올리고뉴클레오티드를 이용함으로써 생산될 수 있다. 어느 정도의 유연성을 갖는 펩티드 링커가 이용될 수 있다. 연결하는 펩티드는 적합한 링커가 전반적으로 유연한 펩티드를 유발하는 서열을 가질 것이라는 점을 유념하면, 사실상 임의의 아미노산 서열을 가질 수 있다. 작은 아미노산, 예를 들면, 글리신과 알라닌의 이용은 유연한 펩티드를 창출하는데 유용하다. 이런 서열의 창출은 당업자에게 일과적이다.

[0079] 적합한 링커는 쉽게 선별될 수 있고, 4개 아미노산 내지 10개 아미노산, 5개 아미노산 내지 9개 아미노산, 6개 아미노산 내지 8개 아미노산, 또는 7개 아미노산 내지 8개 아미노산을 비롯한 적합한 상이한 길이, 예를 들면, 1개 아미노산 (가령, Gly) 내지 20개 아미노산, 2개 아미노산 내지 15개 아미노산, 3개 아미노산 내지 12개 아미노산 중에서 한 가지일 수 있고, 그리고 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개 아미노산일 수 있다.

[0080] 예시적인 유연한 링커는 글리신 중합체 $(G)_n$, 글리신-세린 중합체 (가령, $(GS)_n$, $GSGGS_n$ (서열 번호: 37) 및 $GGGS_n$ (서열 번호: 38) 포함, 여기서 n은 최소한 1의 정수이다), 글리신-알라닌 중합체, 알라닌-세린 중합체, 그리고 당분야에서 공지된 다른 유연한 링커를 포함한다. 글리신과 글리신-세린 중합체가 관심되는데, 그 이유는 이들 아미노산 둘 모두 상대적으로 비구조화되고, 그리고 이런 이유로, 성분 사이에 중성 밧줄로서 역할할 수 있기 때문이다. 글리신 중합체가 특히 관심되는데, 그 이유는 글리신이 알라닌보다 훨씬 많이 파이-프사이 (phi-psi) 공간에 접근하고, 그리고 더욱 긴 측쇄를 갖는 잔기보다 훨씬 적게 한정되기 때문이다 (Scheraga, *Rev. Computational Chem.* 11173-142 (1992)를 참조한다). 예시적인 유연한 링커에는 GGSG (서열 번호:39), GGSGG (서열 번호:40), GSGSG (서열 번호:41), GSGGG (서열 번호:42), GGGSG (서열 번호:43), GSSSG (서열 번호:44), 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 당업자는 앞서 설명된 임의의 원소에 접합된 펩티드의 설계가 링커가 유연한 링커뿐만 아니라 덜 유연한 구조를 부여하는 하나 또는 그 이상의 부분을 포함할 수 있도록, 완전히 또는 부분적으로 유연한 링커를 포함할 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0081] 조절 도메인

[0082] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 조절 도메인은 동시자극성 도메인을 포함한다.

[0083] 일부 경우에, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 조절 도메인은 CAR의 두 번째 폴리펩티드에서 조절 도메인과 실제적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 가령, 일부 경우에, CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 조절 도메인은 CAR의 두 번째 폴리펩티드에서 조절 도메인의 아미노산 서열과 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드의 조절 도메인은 주제 CAR의 두 번째 폴리펩티드의 조절 도메인과 실제적으로 동일한 길이를 가질 수 있다; 가령, 첫 번째와 두 번째 조절 도메인은 길이에서 10개 아미노산보다 적게, 또는 5개 아미노산보다 적게 서로로부터 상이할 수 있다. 일부 경우에, 첫 번째와 두 번째 조절 도메인은 동일한 길이를 갖는다.

[0084] 주제 CAR의 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드에서 포함에 적합한 조절 도메인은 약 30개 아미노산 내지 약 70개 아미노산 (aa)의 길이를 가질 수 있다, 예를 들면, 조절 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개

aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 가질 수 있다. 다른 경우에, 조절 도메인은 약 70개 aa 내지 약 100개 aa, 약 100개 aa 내지 약 200개 aa, 또는 200개 aa보다 큰 길이를 가질 수 있다.

[0085] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 동시자극성 도메인은 일반적으로, 수용체로부터 유래된 폴리펩티드이다. 일부 구체예에서, 동시자극성 도메인은 동종이합체화한다. 주제 동시자극성 도메인은 막경유 단백질의 세포내 부분일 수 있다 (즉, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질로부터 유래될 수 있다). 적합한 동시자극성 폴리펩티드의 무제한적 실례에는 4-1BB (CD137), CD28, ICOS, OX-40, BTLA, CD27, CD30, GITR, 그리고 HVEM이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0086] 일부 경우에, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 동시자극성 도메인은 CAR의 두 번째 폴리펩티드에서 동시자극성 도메인과 실제적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 가령, 일부 경우에, CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 동시자극성 도메인은 CAR의 두 번째 폴리펩티드에서 동시자극성 도메인의 아미노산 서열과 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드의 동시자극성 도메인은 주제 CAR의 두 번째 폴리펩티드의 동시자극성 도메인과 실제적으로 동일한 길이를 가질 수 있다; 가령, 첫 번째와 두 번째 동시자극성 도메인은 길이에서 10개 아미노산보다 적게, 또는 5개 아미노산보다 적게 서로로부터 상이할 수 있다. 일부 경우에, 첫 번째와 두 번째 동시자극성 도메인은 동일한 길이를 갖는다.

[0087] 주제 CAR의 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드에서 포함에 적합한 동시자극성 도메인은 약 30개 아미노산 내지 약 70개 아미노산 (aa)의 길이를 가질 수 있다, 예를 들면, 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 가질 수 있다. 다른 경우에, 동시자극성 도메인은 약 70개 aa 내지 약 100개 aa, 약 100개 aa 내지 약 200개 aa, 또는 200개 aa보다 큰 길이를 가질 수 있다.

[0088] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 4-1BB (또한, TNFRSF9; CD137; 4-1BB; CDw137; ILA; 등으로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0089] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 CD28 (또한, Tp44로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: FWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (서열 번호:63)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0090] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 ICOS (또한, AILIM, CD278, 그리고 CVID1로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: TKKKYSSSVHDPNGEYMFMRAVNTAKKSRLTDVTL (서열 번호:64)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0091] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 OX-40 (또한, TNFRSF4, RP5-902P8.3, ACT35, CD134, OX40, TXGP1L로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산

서열: RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열 번호:65)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0092] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 BTLA (또한, BTLA1과 CD272로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: CCLRRHQGKQNELSDTAGREINLVDAHLKSEQTEASTRQNSQVLLSETGIYDNDPDLCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYASLNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS (서열 번호:66)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0093] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 CD27 (또한, S152, T14, TNFRSF7, 그리고 Tp55로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: HQRRKYRSNKGESPVEPAEPCRYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP (서열 번호:67)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0094] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 CD30 (또한, TNFRSF8, D1S166E, 그리고 Ki-1로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: RRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK (서열 번호:68)의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 또는 약 160개 aa 내지 약 185개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0095] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 GITR (또한, TNFRSF18, RP5-902P8.2, AITR, CD357, 그리고 GITR-D로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: HIWQLRSQCMWPRETQLLLEVPPSTEDARSCQFPEEERGERSAEEKGRLGDLWV (서열 번호:69)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0096] 일부 경우에, 동시자극성 도메인은 막경유 단백질 HVEM (또한, TNFRSF14, RP3-395M20.6, ATAR, CD270, HVEA, HVEM, LIGHTR, 그리고 TR2로서 알려져 있음)의 세포내 부분으로부터 유래된다. 가령, 적합한 동시자극성 도메인은 다음의 아미노산 서열: CVKRRKPRGDVVKVIVSVQRKRQEAEGEATVIEALQAPPDVTTVAVEETIPSFTGRSPNH (서열 번호:70)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 구체예 중에서 일부에서, 첫 번째와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두의 동시자극성 도메인은 약 30개 aa 내지 약 35개 aa, 약 35개 aa 내지 약 40개 aa, 약 40개 aa 내지 약 45개 aa, 약 45개 aa 내지 약 50개 aa, 약 50개 aa 내지 약 55개 aa, 약 55개 aa 내지 약 60개 aa, 약 60개 aa 내지 약 65개 aa, 또는 약 65개 aa 내지 약 70개 aa의 길이를 갖는다.

[0097] 이합체 쌍

[0098] 주제 CAR에서 이용에 적합한 이합체 쌍은 이합체화체-결합 쌍을 포함한다. 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 이합체화체-결합 쌍은 일부 구체예에서, 동일한 분자의 상이한 부위에 결합하는 폴리펩티드 ("이합체화체"로서 본원에서 지칭됨)이다. 이합체화체의 존재에서, 이합체화체-결합 쌍의 양쪽 구성원은 이합체화체의 상이한 부위에

결합하고, 따라서 서로에 근접된다. 일부 구체예에서, 이합체화체에 결합은 가역성이다. 일부 구체예에서, 이합체화체에 결합은 비가역성이다. 일부 구체예에서, 이합체화체에 결합은 비공유이다. 일부 구체예에서, 이합체화체에 결합은 공유이다.

[0099] 이용에 적합한 다른 이합체 쌍은 이합체화 작용제에 이합체 쌍의 첫 번째 구성원의 결합 시에 이합체화하는 이합체화체-결합 쌍을 포함하고, 여기서 이합체화 작용제는 이합체 쌍의 첫 번째 구성원에서 입체형태적 변화를 유도하고, 그리고 여기서 입체형태적 변화는 이합체 쌍의 첫 번째 구성원이 이합체 쌍의 두 번째 구성원에 결합(공유적으로 또는 비공유적으로)하도록 허용한다.

[0100] 이용에 적합한 다른 이합체 쌍은 광 (가령, 청색광)에 노출이 이합체 쌍의 이합체화를 유도하는 이합체 쌍을 포함한다.

[0101] 기전에 상관없이, 이합체 쌍은 이합체화를 유도하는 작용제에 노출 시에 이합체화할 것인데, 여기서 작용제는 일부 경우에 소형 분자, 또는 다른 경우에, 광이다. 따라서, 단순함을 위해, 아래에서 "이합체화체-결합 쌍"을 지칭하는 논의는 기전에 상관없이 이합체화하는 이합체 쌍을 포함한다.

[0102] 적합한 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 무제한적 실례에는 다음이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다:

[0103] a) FK506 결합 단백질 (FKBP)과 FKBP;

[0104] b) FKBP와 칼시뉴린 촉매성 아단위 A (CnA);

[0105] c) FKBP와 시클로필린;

[0106] d) FKBP와 FKBP-라파마이신 연관된 단백질 (FRB);

[0107] e) 자이라아제 B (GyrB)와 GyrB;

[0108] f) 디히드로폴레이트 환원효소 (DHFR)와 DHFR;

[0109] g) DmrB와 DmrB;

[0110] h) PYL과 ABI;

[0111] i) Cry2와 CIB1; 그리고

[0112] j) GAI와 GID1.

[0113] 주제 CAR의 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 첫 번째 또는 두 번째 구성원은 약 50개 아미노산 내지 약 300개 아미노산 또는 그 이상의 길이를 가질 수 있다; 가령, 주제 CAR의 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 첫 번째 또는 두 번째 구성원은 약 50개 aa 내지 약 100개 aa, 약 100개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 200개 aa, 약 200개 aa 내지 약 250개 aa, 약 250개 aa 내지 약 300개 aa, 또는 300개보다 많은 길이를 가질 수 있다.

[0114] 일부 경우에, 주제 CAR의 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 FKBP로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열: MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0115] 일부 경우에, 주제 CAR의 이합체화체-결합 쌍의 구성원은 칼시뉴린 촉매성 아단위 A (또한, PPP3CA; CALN; CALNA; CALNA1; CCN1; CNA1; PPP2B; CAM-PRP 촉매성 아단위; 칼시뉴린 A 알파; 칼모듈린-의존성 칼시뉴린 아단위 알파 동종형; 단백질 포스파타아제 2B, 촉매성 아단위, 알파 동종형 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열 (PP2Ac 도메인): LEESVALRIITEGASILRQEKNLLDIDAPVTVCGDIHGQFFDLMKLFEVGGSPANTRYLFLGDYVDRGYFSIECVLYLWALKILYPKTLFLLRGNHECRHLTEYFTFKQECKIKYSERVYDACMDAFDCLPLAALMNQQFLCVHGGLSPEINTLDDIRKLDRFKEPPAYGPMCDILWSDPLEDFGNEKTQEHFTHNTVRGCSYFYSYPAVCEFLQHNNLLSILRAHEAQDAGYRMYRKSQTTGFPSLITIFSAPNYLDVYNNKAAVLKYENNVMNIRQFNCSPHPYWLPNFM (서열 번호:71)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0116] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 시클로필린 (또한, 시클로필린 A, PPIA, CYPA,

CYPH, PPIase A 등으로서 공지됨)으로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열: MVNPTVFFDIAVDGEPLGRVSFELFADKVPKTAENFRALSTGEKGFGYKGSCFHRIIPGFMCQGGDFTRHNGTGGKSIYGEKFEDENFILKHTGPGILSMANAGPNTNGSQFFICTAKTEWLDGKHVVFGKVKEGMNIVEAMERFGSRNGKTSKKITIADCGQLE (서열 번호:72)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0117] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 MTOR (또한, FKBP-라파마이신 연관된 단백질; FK506 결합 단백질 12-라파마이신 연관된 단백질 1; FK506 결합 단백질 12-라파마이신 연관된 단백질 2; FK506-결합 단백질 12-라파마이신 복합체-연관된 단백질 1; FRAP; FRAP1; FRAP2; RAFT1; 그리고 RAPT1로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열 (또한, "Frb": Fkbp-라파마이신 결합 도메인으로 알려져 있음): MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:14)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0118] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 GyrB (또한, DNA 자이라아제 아단위 B로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 대장균 (*Escherichia coli*)으로부터 다음의 GyrB 아미노산 서열의 약 100개 아미노산 내지 약 200개 아미노산 (aa), 약 200개 aa 내지 약 300개 aa, 약 300개 aa 내지 약 400개 aa, 약 400개 aa 내지 약 500개 aa, 약 500개 aa 내지 약 600개 aa, 약 600개 aa 내지 약 700개 aa, 또는 약 700개 aa 내지 약 800개 aa의 인접한 스트레치에 (또는 임의의 생물체로부터 DNA 자이라아제 아단위 B 서열에) 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0119] MSNSYDSSSIKVLKGLDAVRKRPGMYIGDTDDGTGLHHMVFEVVDNAIDEALAGHCKEIIVTIHADNSVSVQDDGRGIPTGIHPEEGVSAAEVIMTVLHAGGKFDDNSYKVSGGLHGVGVSVVNALSQKLELVIQREGKIHRQIYEHGVPQAPLAVTGETEKTGTMVRFWPSLETFTNVTEFEYEILAKRLRELSFLNSGVSIRLRDKRDGKEDHFHYEGGIKAFVEYLNKNKTPIHPNIFYFSTEKDGIGVEVALQWNDGFQENIYCFTNNIPQRDGGTHLAGFRAAMTRTLNAYMDKEGYSKKAKVSATGDDAREGLIAVVSVKVPDPKFSSQTKDKLVSSEVKSAVEQQMNELLAEYLLENPTDAKIVVGKIIDAARAREAARRAREMTRRKGALDLAGLPGKLADCQERDPALSELYLVEGDSAGGSAKQGRNRKNQAILPLKGKILNVEKARFDKMLSSQEVATLITALGCGIGRDEYNPDKLRYHSIIIMTDADVDGSHIRTLLLTFFYRQMPEIVERGHVYIAQPPLYKVKKGKQEQYIKDDEAMDQYQISIALDGATLHTNASAPALAGEALEKLVSEYNATQKMINRMERRYPKAMLKELIYQPTLTEADLSDEQTVTRWVNALVSELNDKEQHGSQWKFDVHTNAEQNLFEPIVRVRTHGVDTDYPLDHEFITGGEYRRICTLGEKLRGLLEEDAFIERGERRQPVASFEQALDWLVKESRRGLSIQRYKGLGEMNPEQLWETTMDPESRRMLRVTVKDAIAADQLFTTLMGDAVEPRRAFIEENALKAANIDI (서열 번호:73). 일부 경우에, 이합체화체-결합 쌍의 구성원은 대장균 (*Escherichia coli*)으로부터 상기-열거된 GyrB 아미노산 서열의 아미노산 1-220에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0120] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 DHFR (또한, 디히드로폴레이트 환원효소, DHFRP1, 그리고 DYR로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열: MVGSLNCIVAVSQNMGIGKNGDLPWPPLRNEFRYFQRMTTTSSVEGKQNLVIMGKKTWFSIPEKNRPLKGRINLVLSRELKEPPQGAHFLSRSLDDALKLTEQPELANKVDMVWIVGGSSVYKEAMNHPGHLKLFVTRIMQDFESDTFFPEIDLEKYKLLPEYPGVLSDVQEEKGIKYKFEVYEKND (서열 번호:74)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0121] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 DmrB 결합 도메인 (즉, DmrB 동종이합체화 도메인)으로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열: MASRGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKVDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:75)에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0122] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 PYL 단백질 (또한, 아브시스산 수용체와 RCAR로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 주제 이합체화체-결합 쌍의 구성원은 단백질, 예를 들면, 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)의 단백질: PYR1, RCAR1(PYL9), PYL1, PYL2, PYL3, PYL4, PYL5, PYL6, PYL7, PYL8 (RCAR3), PYL10, PYL11, PYL12, PYL13으로부터 유래될 수 있다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다

음의 아미노산 서열 중에서 한 가지에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0123] PYL10:

[0124] MNGDETKKVESEYIKKHHRHELVESQCSSTLVKHIKAPLHLVWSIVRRFDEPQKYKPFISRCVVQGKKLEVGSVREVDLKSGLPATKSTEVLEILDDNEHIL GIRIVGGDHRLKNYSSTISLHSETIDGKTGTLAIESFVVDVPEGNTKEETCFFVEALIQCNLNSLADVTERLQAESMEKKI (서열 번호:76).

[0125] PYL11:

[0126] METSQKYHTCGSTLVQTIDAPLSLVWSILRRFDNPQAYKQFVKTCNLSSGDGGEGSVREVTVVSGLPAEFSRERLDELDDESHVMMISIIGGDHRLVNYRSK TMAFVAADTEEKTVVVESYVVDVPEGNSEEETTSFADTIVGFNLKSLAKLSERVAHLKL (서열 번호:77)

[0127] PYL12:

[0128] MKTSQEQHVCGSTVVQTINAPLPLVWSILRRFDNPKTFKHFVKTCKLRSGDGGEGSVREVTVVSDLPASFSLERLDELDDESHVMVISIIGGDHRLVNYQSK TTVFVAAEEEKTVVVESYVVDVPEGNTEEETTLFADTIVGCNLRSLAKLSEKMMELT (서열 번호:78).

[0129] PYL13:

[0130] MESSKQKRCRSSVVETIEAPLPLVWSILRSFDKPQAYQRFVKSCTMRSGGGGGKGGEGKGSVRDVTLVSGFPADFSTERLEELDDESHVMVVSIIGGNHRLV NYKSKTKVVASPEDMAKKTVVVESYVVDVPEGTSEEDTIFFVDNIIRYNLTSLAKLTKKMMK (서열 번호:79).

[0131] PYL1:

[0132] MANSESSSSPVNEEENSQRISTLHHQTMPSDLTQDEFTQLSQSIAEFHTYQLGNGRCSSLLAQRIHAPPETVWSVVRRFDRPQIYKHFIKSCNVSEDFEMRV GCTRDVNVISGLPANTSRERLDLLDDDRRVTGFSITGGEHRLRNYKSVTTVHRFEKEEEEEERIWTVVLESYVVDVPEGNSEEDTRLFADTVIRLNLQKLASI TEAMNRNNNNNNSSQVR (서열 번호:80).

[0133] PYL2:

[0134] MSSSPAVKGLTDEEQKTLEPVIKTYHQFEPDPTTCTSLITQRIHAPASVVWPLIRRFDNPERYKHFVKRCRLISGDGDVGSVREVTVISGLPASTSTERLEF VDDDHRVLSFRVVGGEHRLKNYKSVTSVNEFLNQDSGKVYTVVLESYTVDIPEGNTEEDTKMFVDTVVKLNLQKLGVAATSAPMHDDE (서열 번호:81).

[0135] PYL3:

[0136] MNLAPIHDPSSSSTTTTSSSTPYGLTKDEFSTLDSIIRTHHTFPRSPNTCTSLIAHRVDAPAHAIWRFVRDFANPNKYKHFIKSCTIRVNGNGIKEIKVGTI REVSVVSGLPASTSVEILEVLDEEKRILSFRVLGGEHRLNNYRSVTSVNEFVVLEKDKKKRVYSVVLESYIVDIPQGNTEEDTRMFVDTVVKSNLQNLAVIS TASPT (서열 번호:82).

[0137] PYL4:

[0138] MLAVHRPSSAVSDGDSVQIPMMIASFQKRFPSLSRDSTAARFHTHEVGPNQCCSAVIQEISAPISTVWSVVRRFDNPQAYKHFLKSCSVIGGDGDNVGSLRQ VHVVSGLPAASSTERLDILDDERHVISFSVVGGDHRLSNYRSVTTLHPSPISGTVVVESYVVDVPPGNTKEETCDFVDVIVRCNLQSLAKIAENTAAESKKK MSL (서열 번호:83).

[0139] PYL5:

[0140] MRSPVQLQHGSDATNGFHTLQPHDQTDGPIKRVCLTRGMHVPEHVAMHHTHDVGPDQCCSSVVQMIHAPPESVWALVRRFDNPKVYKNFIRQCRIVQGDGLH VGDLREVMVVSGLPAVSSTERLEILDEERHVISFSVVGGDHRLKNYRSVTTLHASDDEGTVVVESYIVDVPPGNTEEETLSFVDTIVRCNLQSLARSTNRQ (서열 번호:84).

[0141] PYL6:

[0142] MPTSIQFQRSSTAAEAANATVRNYPHHHQKQVQKVSLTRGMADVPEHVELSHTHVVGPSQCFSVVVQDVEAPVSTVWSILSRFEHPQAYKHFVKSCHVVIGD GREVGSVREVRVVSGLPAAFSLERLEIMDDDRHVISFSVVGGDHRLMNYKSVTTVHESEEDSDGKKRTRVVESYVVDVPAGNDKEETCSFADTIVRCNLQSL AKLAENTSKFS (서열 번호:85).

[0143] PYL7:

[0144] MEMIGGDDTDTEMYGALVTAQSLRLRHLHHCRENQCTSVLVKYIQAPVHLVWSLVRRFDQPQKYKPFISRCTVNGDPEIGCLREVNVKSGLPATTSTERLEQ LDDEEHILGINIIGGDHRLKNYSSILTVHPEMIDGRSGTMVMESFVVDVPQGNTKDDTCYFVESLIKCNLKSLACVSERLAAQDITNSIATFCNASNGYREK

NHTETNL (서열 번호:86).

[0145] PYL8:

[0146] MEANGIENLTNPNQEREFIRRHHKHELVDNQCSSTLVKHINAPVHIVWSLVRRFDQPQKYKPFISRCVVKGNMEIGTVREVDVKSGLPATRSTERLELLDDN EHILSIRIVGGDHRLKNYSSIISLHPETIEGRIGTLVIESFVVDVPEGNTKDETCYFVEALIKCNLKSLADISERLAVQDTTESRV (서열 번호:87).

[0147] PYL9:

[0148] MMDGVEGGTAMYGGLETVQYVRTHHQHLCRENQCTSALVKHIKAPLHLVWSLVRRFDQPQKYKPFVSRCTVIGDPEIGSLREVNVKSGLPATTSTERLELLD DEEHILGIKIIGGDHRLKNYSSILTVHPEIIEGRAGTMVIESFVVDVPQGNTKDETCYFVEALIRCNLKSLADVSERLASQDITQ (서열 번호:88).

[0149] PYR1:

[0150] MPSELTPEERSELKNSIAEFHTYQLDPGSCSSLHAQRIHAPPELVWSIVRRFDKPQTYKHFIKSCSVEQNFEMRVGCTRDVIVISGLPANTSTERLDILDDE RRVTGFSIIGGEHRLTNYKSVTTVHRFEKENRIWTVVLESYVVDMPEGNSEDDTRMFADTVVKLNLQKLATVAEAMARNSGDGSGSQVT (서열 번호:89).

[0151] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 ABI 단백질 (또한, 아브시스산-둔감성으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 주제 이합체화체-결합 쌍의 구성원은 단백질, 예를 들면, 애기장대 (Arabidopsis thaliana)의 단백질: ABI1 (또한, 아브시스산-둔감성 1, 단백질 포스파타아제 2C 56, AtPP2C56, P2C56, 그리고 PP2C ABI1로서 알려져 있음) 및/또는 ABI2(또한, P2C77, 단백질 포스파타아제 2C 77, AtPP2C77, 아브시스산-둔감성 2, 단백질 포스파타아제 2C ABI2, 그리고 PP2C ABI2로서 알려져 있음)로부터 유래될 수 있다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열 중에서 한 가지의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 약 160개 aa 내지 약 170개 aa, 약 170개 aa 내지 약 180개 aa, 약 180개 aa 내지 약 190개 aa, 또는 약 190개 aa 내지 약 200개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0152] ABI1:

[0153] MEEVSPAIAGPFRPFSETQMDFTGIRLGKGYCNNQYSNQDSENGDLMVSLPETSSCSVSGSHGSESRKVLISRINSPNLNMKESAAADIVVVDISAGDEING SDITSEKKMISRTESRSLFEFKSVPLYGFTSICGRRPEMEDAVSTIPRFLQSSSGSMLDGRFDPQSAAHFFGVYDGHGGSQVANYCRERMHLALAEEIAKEK PMLCDGDTWLEKWKKALFNSFLRVDSEIESVAPETVGSTSVVAVVFPSHIFVANCGDSRAVLCRGKTALPLSVDHKPDREDEAARIEAAGGKVIQWNGARVF GVLAMSRSIGDRYLKPSIIPDPEVTAVKRVKEDDCLILASDGVWDVMTDEEACEMARKRILLWHKKNAVAGDASLLADERRKEGKDPAAMSAAEYLSKLAIQ RGSKDNISVVVVDLKPRRKLKSKPLN (서열 번호:90).

[0154] ABI2:

[0155] MDEVSPAVAVPFRPFTDPHAGLRGYCNGESRVTLPESSCSGDGAMKDSSFEINTRQDSLTSSSSAMAGVDISAGDEINGSDEFDPRSMNQSEKKVLSRTESR SLFEFKCVPLYGVTSICGRRPEMEDSVSTIPRFLQVSSSSLLDGRVTNGFNPHLSAHFFGVYDGHGGSQVANYCRERMHLALTEEIVKEKPEFCDGDTWQEK WKKALFNSFMRVDSEIETVAHAPETVGSTSVVAVVFPTHIFVANCGDSRAVLCRGKTPLALSVDHKPDRDDEAARIEAAGGKVIRWNGARVFGVLAMSRSIG DRYLKPSVIPDPEVTSVRRVKEDDCLILASDGLWDVMTNEEVCDLARKRILLWHKKNAMAGEALLPAEKRGEGKDPAAMSAAEYLSKMALQKGSKDNISVVV VDLKGIRKFKSKSLN (서열 번호:91).

[0156] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 Cry2 단백질 (또한, 크립토크롬 2로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 주제 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 임의의 생물체 (가령, 식물)로부터 Cry2 단백질, 예를 들면, 하지만 제한 없이, 애기장대 (Arabidopsis thaliana)의 단백질로부터 유래될 수 있다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열 중에서 한 가지의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 약 160개 aa 내지 약 170개 aa, 약 170개 aa 내지 약 180개 aa, 약 180개 aa 내지 약 190개 aa, 또는 약 190개 aa 내지 약 200개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0157] Cry2 (애기장대 (*Arabidopsis thaliana*))
MKMDKKTIVWFRRDLRIEDNPALAAAAHEGSVFPVFIWCPEEEGQFYPGRASRWWMKQSLAHLSQSLKALGSDLTLIKTHNTISAILDCIRVTGATKVVFNH

LYDPVSLVRDHTVKEKLVERGISVQSYNGDLLYEPWEIYCEKGKPFTSFNSYWKKCLDMSIESVMLPPPWRLMPITAAAEAIWACSIEELGLENEAEKPSNA
LLTRAWSPGWSNADKLLNEFIEKQLIDYAKNSKKVVGNSTSLLSPYLHFGEISVRHVFQCARMKQIIWARDKNSEGEESADLFLRGIGLREYSRYICFNFPF
THEQSLLSHLRFFPWDADVDKFKAWRQGRTGYPLVDAGMRELWATGWMHNRIRVIVSSFAVKFLLLPWKWGMKYFWDTLLDADLECDILGWQYISGSIPDGH
ELDRLDNPALQGAKYDPEGEYIRQWLPELARLPTEWIHHPWDAPLTVLKASGVELGTNYAKPIVDIDTARELLAKAISRTREAQIMIGAAPDEIVADSFEAL
GANTIKEPGLCPSVSSNDQQVPSAVRYNGSKRVKPEEEEERDMKKSRGFDERELFSTAESSSSSSVFFVSQSCSLASEGKNLEGIQDSSDQITTSLGKNGCK
(서열 번호:92).

[0158] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 CIB1 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 단백질 (또한, 전사 인자 bHLH63으로서 알려져 있음)으로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍) 구성원은 다음의 아미노산 서열의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 약 160개 aa 내지 약 170개 aa, 약 170개 aa 내지 약 180개 aa, 약 180개 aa 내지 약 190개 aa, 또는 약 190개 aa 내지 약 200개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0159] MNGAIGGDLLLNFPDMSVLERQRAHLKYLNPTFDSPLAGFFADSSMITGGEMDSYLSTAGLNLPMMYGETTVEGDSRLSISPETTLGTGNFKKRKFDTETKD
CNEKKKKMTMNRDDLVEEGEEEKSKITEQNNGSTKSIKKMKHKAKKEENNFSNDSSKVTKELEKTDYIHVRARRGQATDSHSIAERVRREKISERMKFLQDL
VPGCDKITGKAGMLDEIINYVQSLQRQIEFLSMKLAIVNPRPDFDMDDIFAKEVASTPMTVVPSPEMVLSGYSHEMVHSGYSSEMVNSGYLHVNPMQQVNTS
SDPLSCFNNGEAPSMWDSHVQNLYGNLGV (서열 번호:93).

[0160] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 GAI 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 단백질 (또한, 지베렐린산 둔감성, 그리고 DELLA 단백질 GAI로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체화체-결합 쌍 구성원은 다음의 아미노산 서열의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 약 160개 aa 내지 약 170개 aa, 약 170개 aa 내지 약 180개 aa, 약 180개 aa 내지 약 190개 aa, 또는 약 190개 aa 내지 약 200개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0161] MKRDHHHHHHQDKKTMMMNEEDDGNGMDELLAVLGYKVRSSEMADVAQKLEQLEVMMSNVQEDDLSQLATETVHYNPAELYTWLDSMLTDLNPPSSNAEYDL
KAIPGDAILNQFAIDSASSSNQGGGGDTYTTNKRLKCSNGVVETTTATAESTRHVVLVDSQENGVRLVHALLACAEAVQKENLTVAEALVKQIGFLAVSQIG
AMRKVATYFAEALARRIYRLSPSQSPIDHSLSDTLQMHFYETCPYLKFAHFTANQAILEAFQGKKRVHVIDFSMSQGLQWPALMQALALRPGGPPVFRLTGI
GPPAPDNFDYLHEVGCKLAHLAEAIHVEFEYRGFVANTLADLDASMLELRPSEIESVAVNSVFELHKLLGRPGAIDKVLGVVNQIKPEIFTVVEQESNHNSP
IFLDRFTESLHYYSTLFDSLEGVPSGQDKVMSEVYLGKQICNVVACDGPDRVERHETLSQWRNRFGSAGFAAAHIGSNAFKQASMLLALFNGGEGYRVEESD
GCLMLGWHTRPLIATSAWKLSTN (서열 번호:94).

[0162] 일부 경우에, 이합체 (가령, 이합체화체-결합 쌍)의 구성원은 GID1 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 단백질 (또한, 지베렐린 수용체 GID1로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 이합체 구성원은 다음의 아미노산 서열 중에서 한 가지의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 160개 aa, 약 160개 aa 내지 약 170개 aa, 약 170개 aa 내지 약 180개 aa, 약 180개 aa 내지 약 190개 aa, 또는 약 190개 aa 내지 약 200개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0163] GID1A:

[0164] MAASDEVNLIESRTVVPLNTWVLISNFKVAYNILRRPDGTFNRHLAEYLDRKVTANANPVDGVFSFDVLIDRRINLLSRVYRPAYADQEQPPSILDLEKPVD
GDIVPVILFFHGGSFAHSSANSAIYDTLCRRLVGLCKCVVVSVNYRRAPENPYPCAYDDGWIALNWVNSRSWLKSKKDSKVHIFLAGDSSGGNIAHNVALRA
GESGIDVLGNILLNPMFGGNERTESEKSLDGKYFVTVRDRDWYWKAFLPEGEDREHPACNPFSPRGKSLEGVSFPKSLVVVAGLDLIRDWQLAYAEGLKKAG
QEVKLMHLEKATVGFYLLPNNNHFHNVMDEISAFVNAEC (서열 번호:95).

[0165] GID1B:

[0166] MAGGNEVNLNECKRIVPLNTWVLISNFKLAYKVLRRPDGSFNRDLAEFLDRKVPANSFPLDGVFSFDHVDSTTNLLTRIYQPASLLHQTRHGTLELTKPLST

TEIVPVLIFFHGGSFTHSSANSAIYDTFCRRLVTICGVVVVSVDYRRSPEHRYPCAYDDGWNALNWVKSRVWLQSGKDSNVYVYLAGDSSGGNIAHNVAVRA
TNEGVKVLGNILLHPMFGGQERTQSEKTLDGKYFVTIQDRDWYWRAYLPEGEDRDHPACNPFGPRGQSLKGVNFPKSLVVVAGLDLVQDWQLAYVDGLKKTG
LEVNLLYLKQATIGFYFLPNNDHFHCLMEELNKFVHSIEDSQSKSSPVLLTP (서열 번호:96)

[0167] GID1C:

[0168] MAGSEEVNLIESKTVVPLNTWVLISNFKLAYNLLRRPDGTFNRHLAEFLDRKVPANANPVNGVFSFDVIIDRQTNLLSRVYRPADAGTSPSITDLQNPVDGE
IVPVIVFFHGGSFAHSSANSAIYDTLCRRLVGLCGAVVVSVNYRRAPENRYPCAYDDGWAVLKWVNSSSWLRSKKDSKVRIFLAGDSSGGNIVHNVAVRAVE
SRIDVLGNILLNPMFGGTERTESEKRLDGKYFVTVRDRDWYWRAFLPEGEDREHPACSPFGPRSKSLEGLSFPKSLVVVAGLDLIQDWQLKYAEGLKKAGQE
VKLLYLEQATIGFYLLPNNNHFHTVMDEIAAFVNAECQ (서열 번호:97).

[0169] 이합체화체

[0170] 이합체화체-결합 쌍의 첫 번째 구성원 및 이합체화체-결합 쌍의 두 번째 구성원의 이합체화를 제공할 수 있는 이합체화체 ("이합체화 작용제)는 예로서 다음을 포함한다 (여기서 이합체화체는 이합체화체-결합 쌍 다음의 괄호 안에 있다:

[0171] a) FKBP와 FKBP (라파마이신);

[0172] b) FKBP와 CnA (라파마이신);

[0173] c) FKBP와 시클로필린 (라파마이신);

[0174] d) FKBP와 FRG (라파마이신);

[0175] e) GyrB와 GyrB (코우메르마이신);

[0176] f) DHFR과 DHFR (메토트렉사트);

[0177] g) DmrB와 DmrB (AP20187);

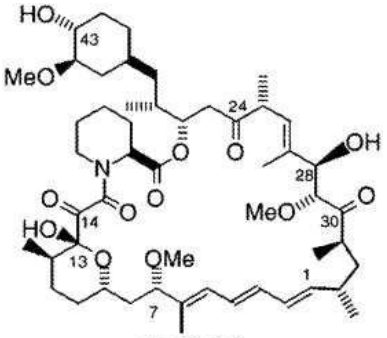
[0178] h) PYL과 ABI (아브시스산);

[0179] i) Cry2와 CIB1 (청색광); 그리고

[0180] j) GAI과 GID1 (지베렐린).

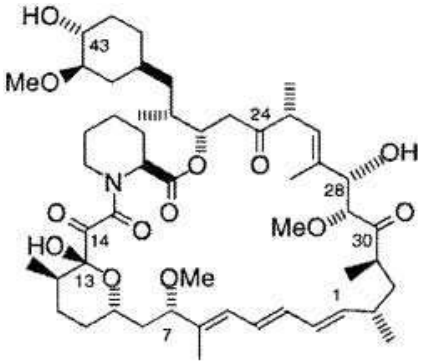
[0181] 전술한 바와 같이, 라파마이신은 이합체화체로서 역할할 수 있다. 대안으로, 라파마이신 유도체 또는 유사체가 이용될 수 있다. 가령, WO96/41865; WO 99/36553; WO 01/14387; 그리고 Ye et al (1999) *Science* 283:88-91을 참조한다. 가령, 유사체, 동족체, 유도체 및 라파마이신에 구조적으로 관련된 다른 화합물 ("라파로그")는 그 중에서도 특히, 라파마이신에 비하여 다음의 변형 중에서 하나 또는 그 이상을 갖는 라파마이신의 변이체를 포함한다: 탈메틸화, C7, C42 및/또는 C29에서 메톡시의 제거 또는 대체; C13, C43 및/또는 C28에서 히드록시의 제거, 유도체화 또는 대체; C14, C24 및/또는 C30에서 케톤의 환원, 제거 또는 유도체화; 6-원 피페콜레이트 고리의 5-원 프로릴 고리로의 대체; 그리고 시클로헥실 고리 상에서 대안적 치환 또는 시클로헥실 고리의 치환된 시클로펜틸 고리로의 대체. 추가 정보는 예로서, U.S. 특허 번호 5,525,610; 5,310,903 5,362,718; 그리고 5,527,907에서 제공된다. C-28 히드록실 기의 선별적인 에피머화가 설명되었다; 가령, WO 01/14387을 참조한다. 라파마이신에 대안으로서 이용에 적합한 추가 합성 이합체화 작용제는 U.S. 특허 공개 번호 2012/0130076에서 설명된 것들을 포함한다.

[0182] 라파마이신은 다음 구조를 갖는다:



라파마이신

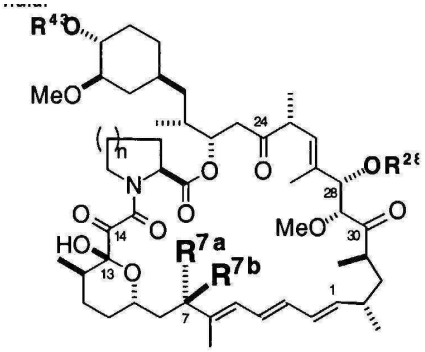
[0183]



28-에피라파마이신

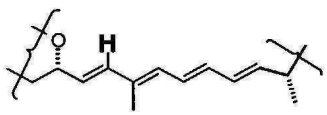
[0184] 적합한 라파로그는 예로서, 를 포함한다.

[0185] 또한, 다음 화학식의 화합물이 라파로그로서 적합하다:



[0186]

[0187] 여기서 n은 1 또는 2이고; R^{28}과 R^{43}은 독립적으로 H, 또는 치환된 또는 치환되지 않은 지방족 또는 아실 모이어티이고; R^{7a}와 R^{7b} 중에서 한 가지는 H이고 다른 것은 할로, R^{A}, OR^{A}, SR^{A}, $-OC(O)R^{A}$, $-OC(O)NR^{A}R^{B}$, $-NR^{A}R^{B}$, $-NR^{B}C(OR)R^{A}$, $NR^{B}C(O)OR^{A}$, $-NR^{B}SO_2R^{A}$, 또는 $NR^{B}SO_2NR^{A}R^{B'}$이고; 또는 R^{7a}와 R^{7b}는 서로 합쳐, 테트라엔 모이어티에서 H이고:



[0188]

[0189] 여기서 R^{A}는 H 또는 치환된 또는 치환되지 않은 지방족, 헤테로지방족, 아릴, 또는 헤테로아릴 모이어티이고, 그리고 여기서 R^{B}와 $R^{B'}$는 독립적으로 H, OH, 또는 치환된 또는 치환되지 않은 지방족, 헤테로지방족, 아릴, 또는 헤테로아릴 모이어티이다.

[0190] 전술한 바와 같이, 코우메르마이신은 이합체화 작용제로서 역할할 수 있다. 대안으로, 코우메르마이신 유사체가 이용될 수 있다. 가령, Farrar et al. (1996) *Nature* 383:178-181; 그리고 U.S. 특허 번호 6,916,846을 참조한다.

[0191] 전술한 바와 같이, 일부 경우에, 이합체화 작용제는 메토트렉사트, 예를 들면, 비세포독성, 호모-이중기능성 메토트렉사트 이합체이다. 가령, U.S. 특허 번호 8,236,925를 참조한다.

[0192] **세포내 신호전달 도메인**

[0193] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 세포내 신호전달 도메인은 CAR의 활성화 (즉, 항원 및 이합체화 작용제에 의해 활성화됨)에 대한 응답으로 상이하고 검출가능한 신호 (가령, 세포에 의한 하나 또는 그 이상의 사이토킨의 증가된 생산; 표적 유전자의 전사에서 변화; 단백질의 활성에서 변화; 세포 행태, 예를 들면, 세포 사멸에서 변화; 세포 증식; 세포 분화; 세포 생존; 세포 신호전달 반응의 조정 등)를 제공하는 임의의 원하는 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 아래에 설명된 바와 같은 최소한 하나의 (가령, 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개 등) ITAM 모티프를 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 DAP10/CD28 유형 신호전달 사슬을 포함한다. 일부 구체예에서, 세포내 신호전달 도메인은 막 결합된 CAR에 공유 부착되지 않고, 그 대신에 세포질 내에 확산된다.

[0194] ***ITAM***

[0195] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 세포내 신호전달 도메인은 면역수용체 티로신-기초된 활성화 모티프 (ITAM)-내포 세포내 신호전달 폴리펩티드를 포함한다. ITAM 모티프는 YX_1X_2L/I이고, 여기서 X_1과 X_2는 독립적으로 임의의 아미노산 (서열 번호:130)이다. 일부 경우에, 주제 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 ITAM 모티프를 포함한다. 일부 경우에, ITAM 모티프는 세포내 신호전달 도메인에서 2회 반복되고, 여기서 ITAM 모티프의 첫 번째와 두 번째 사례는 6 내지 8개 아미노산, 예를 들면, $(YX_1X_2L/I)(X_3)_n(YX_1X_2L/I)$에 의해 서로로부터 분리되고, 여기서 n은 6 내지 8의 정수이고, 그리고 각각의 6-8 X_3은 임의의 아미노산 (서열 번호:131)일 수 있다. 일부 경우에, 주제 CAR의 세포내 신호전달 도메인은 3개의 ITAM 모티프를 포함한다.

[0196] 적합한 세포내 신호전달 도메인은 ITAM 모티프를 내포하는 폴리펩티드로부터 유래되는 ITAM 모티프-내포 부분일 수 있다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인은 임의의 ITAM 모티프-내포 단백질로부터 ITAM 모티프-내포 도메인일 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인은 자신이 유래되는 전체 단백질의 전체 서열을 내포할 필요가 없다. 적합한 ITAM 모티프-내포 폴리펩티드의 실례에는 DAP12; FCER1G (Fc 엡실론 수용체 I 감마 사슬); CD3D (CD3 델타); CD3E (CD3 엡실론); CD3G (CD3 감마); CD3Z (CD3 제타); 그리고 CD79A (항원 수용체 복합체-연관된 단백질 알파 사슬)가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0197] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 DAP12 (또한, TYROBP; TYRO 단백질 티로신 키나아제 결합 단백질; KARAP; PLOSL; DNAX-활성화 단백질 12; KAR-연관된 단백질; TYRO 단백질 티로신 키나아제-결합 단백질; 킬러 활성화 수용체 연관된 단백질; 킬러-활성화 수용체-연관된 단백질 등으로서 알려져 있음)으로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열 (4가지 동종형) 중에서 한 가지에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0198] MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (서열 번호:98);

[0199] MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQAQSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAAEATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (서열 번호:99);

[0200] MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAAEAATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (서열 번호:100); 또는

[0201] MGGLEPCSRLLLLPLLLAVSDCSCSTVSPGVLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAAEATRKQRITETESP**YQEL**QGQRSDV**YSDL**NTQRPYYK (서열 번호:101), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0202] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 DAP12 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일

성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0203] ESPYQELQGQRSDVYSDLNTQ (서열 번호:102), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0204] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 FCER1G (또한, FCRG; Fc 엡실론 수용체 I 감마 사슬; Fc 수용체 감마-사슬; fc-엡실론 RI-감마; fc감마; fceRI 감마; 높은 친화성 면역글로불린 엡실론 수용체 아단위 감마; 면역글로불린 E 수용체, 높은 친화성, 감마 사슬 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0205] MIPAVVLLLLLLVEQAAALGEPQLCYILDAILFLYGIVLTLLYCRLKIQVRKAAITSYEKSDGVYTGLSTRNQETYETLKHEKPPQ (서열 번호:103), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0206] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 FCER1G 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0207] DGVYTGLSTRNQETYETLKHE (서열 번호:104), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0208] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 T-세포 표면 당단백질 CD3 델타 사슬 (또한, CD3D; CD3-델타; T3D; CD3 항원, 델타 아단위; CD3 델타; CD3d 항원, 델타 폴리펩티드 (TiT3 복합체); OKT3, 델타 사슬; T 세포 수용체 T3 델타 사슬; T-세포 표면 당단백질 CD3 델타 사슬 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열 (2개의 동종형) 중에서 어느 한쪽의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 또는 약 150개 aa 내지 약 170개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0209] MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVELDPA TVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK (서열 번호:105) 또는 MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRTADTQALLRND QVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK (서열 번호:106), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0210] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 CD3 델타 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0211] DQVYQPLRDRDDAQYSHLGGN (서열 번호:107), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0212] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 T-세포 표면 당단백질 CD3 엡실론 사슬 (또한, CD3e, T-세포 표면 항원 T3/Leu-4 엡실론 사슬, T-세포 표면 당단백질 CD3 엡실론 사슬, AI504783, CD3, CD3엡실론, T3e 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 또는 약 150개 aa 내지 약 205개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0213] MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRG SKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQ RRI (서열 번호:108), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0214] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 CD3 엡실론 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0215] NPDYEPIRKGQRDLYSGLNQR (서열 번호:109), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0216] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 T-세포 표면 당단백질 CD3 감마 사슬 (또한, CD3G, T 세포 수용체 T3 감마 사슬, CD3-감마, T3G, 감마 폴리펩티드 (TiT3 복합체) 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 또는 약 150개 aa 내지 약 180개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0217] MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYR MCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN (서열 번호:110), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0218] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 CD3 감마 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0219] DQLYQPLKDREDDQYSHLQGN (서열 번호:111), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0220] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 T-세포 표면 당단백질 CD3 제타 사슬 (또한, CD3Z, T 세포 수용체 T3 제타 사슬, CD247, CD3-제타, CD3H, CD3Q, T3Z, TCRZ 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열 (2개의 동종형) 중에서 어느 한쪽의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 140개 aa, 약 140개 aa 내지 약 150개 aa, 또는 약 150개 aa 내지 약 160개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다: MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRR KNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:112) 또는 MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPQR RKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR(서열 번호:113), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0221] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 CD3 제타 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열 중에서 한 가지에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0222] RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYD ALHMQALPPR (서열 번호:18);

[0223] NQLYNELNLGRREEYDVLDKR (서열 번호:114);

[0224] EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMK (서열 번호:115); 또는

[0225] DGLYQGLSTATKDTYDALHMQ (서열 번호:116), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0226] 일부 경우에, 세포내 신호전달 도메인은 CD79A (또한, B-세포 항원 수용체 복합체-연관된 단백질 알파 사슬; CD79a 항원 (면역글로불린-연관된 알파); MB-1 막 당단백질; ig-알파; 막-결합된 면역글로불린-연관된 단백질; 표면 IgM-연관된 단백질 등으로서 알려져 있음)로부터 유래된다. 가령, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열 (2개의 동종형) 중에서 어느 한쪽의 약 100개 아미노산 내지 약 110개 아미노산 (aa), 약 110개 aa 내지 약 115개 aa, 약 115개 aa 내지 약 120개 aa, 약 120개 aa 내지 약 130개 aa, 약 130개 aa 내지 약 150개 aa, 약 150개 aa 내지 약 200개 aa, 또는 약 200개 aa 내지 약 220개 aa의 인접한 스트레치에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다:

[0227] MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDAHFQCPHNSSNNANVTWWRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNGTLIIQNVNKSHGG

IYVCRVQEGNESYQQSCGTYLRVRQPPPRPFLDMGEGTKNRIITAEGIILLFCAVVPGTLLLFRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENL**YEGL**NLDDCSM**YEDI**SR GLQGTYQDVGSLNIGDVQLEKP (서열 번호:117); 또는

[0228] MPGGPGVLQALPATIFLLFLLSAVYLGPGCQALWMHKVPASLMVSLGEDAHFQCPHNSSNNANVTWWRVLHGNYTWPPEFLGPGEDPNEPPPRPFLDMGEGT KNRIITAEGIILLFCAVVPGTLLLFRKRWQNEKLGLDAGDEYEDENLYEGLNLDDCSMYEDISRGLQGTYQDVGSLNIGDVQLEKP (서열 번호:118), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0229] 유사하게, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 전장 CD79A 아미노산 서열의 ITAM 모티프-내포 부분을 포함할 수 있다. 따라서, 적합한 세포내 신호전달 도메인 폴리펩티드는 다음의 아미노산 서열에 최소한 약 75%, 최소한 약 80%, 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함할 수 있다: ENL**YEGL**NLDDCSM**YEDI**SRG (서열 번호:119), 여기서 ITAM 모티프는 굵게 표시되고 밑줄 그어진다.

[0230] *DAP10/CD28*

[0231] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 세포내 신호전달 도메인은 DAP10/CD28 유형 신호전달 사슬을 포함한다.

[0232] DAP10 신호전달 사슬의 실례는 다음의 아미노산 서열이다: RPRRSPAQDGKV**YINM**PGRG (서열 번호:120). 일부 구체예에서, 적합한 세포내 신호전달 도메인은 아미노산 서열 RPRRSPAQDGKV**YINM**PGRG (서열 번호:120)의 전체 길이에 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 최소한 약 99%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0233] CD28 신호전달 사슬의 실례는 다음의 아미노산 서열 FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSD**YMNM**TPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (서열 번호:121)이다. 일부 구체예에서, 적합한 세포내 신호전달 도메인은 아미노산 서열 FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSD**YMNM**TPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS (서열 번호:121)의 전체 길이에 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 또는 최소한 약 99%, 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0234] *ZAP70*

[0235] 본 발명의 CAR에서 이용에 적합한 세포내 신호전달 도메인은 ZAP70 폴리펩티드, 예를 들면, 다음의 아미노산 서열의 약 300개 아미노산 내지 약 400개 아미노산, 약 400개 아미노산 내지 약 500개 아미노산, 또는 약 500개 아미노산 내지 619개 아미노산의 인접한 스트레치에 최소한 약 85%, 최소한 약 90%, 최소한 약 95%, 최소한 약 98%, 최소한 약 99%, 또는 100% 아미노산 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드를 포함한다:

[0236] MPDPAAHLPFFYGSISRAEAEEHLKLAGMADGLFLLRQCLRSLGGYVLSLVHDVRFHHFPIERQLNGTYAIAGGKAHCGPAELCEFYSRDPDGLPCNLRKPC NRPSGLEPQPGVFDCLRDAMVRDYVRQTWKLEGEALEQAIISQAPQVEKLIATTAHERMPWYHSSLTREEAERKLYSGAQTDGKFLLRPRKEQGTYALSLIY GKTVYHYLISQDKAGKYCIPEGTKFDTLWQLVEYLKLKADGLIYCLKEACPNSSASNASGAAAPTLPAHPSTLTHPQRRIDTLNSDGYTPEPARITSPDKPR PMPMDTSVYESPYSDPEELKDKKLFLKRDNLLIADIELGCGNFGSVRQGVYRMRKKQIDVAIKVLKQGTEKADTEEMMREAQIMHQLDNPYIVRLIGVCQAE ALMLVMEMAGGGPLHKFLVGKREEIPVSNVAELLHQVSMGMKYLEEKNFVHRDLAARNVLLVNRHYAKISDFGLSKALGADDSYYTARSAGKWPLKWYAPEC INFRKFSSRSDVWSYGVTMWEALSYGQKPYKKMKGPEVMAFIEQGKRMECPPECPPELYALMSDCWIYKWEDRPDFLTVEQRMRACYYSLASKVEGPPGSTQ KAEAACA (서열 번호:36).

[0237] 추가 서열

[0238] 주제 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드는 하나 또는 그 이상의 추가 폴리펩티드 도메인을 더욱 포함할 수 있고, 여기서 이런 도메인에는 신호 서열; 에피토프 태그; 친화성 도메인; 그리고 검출가능한 신호를 생산하는 폴리펩티드가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0239] *신호 서열*

[0240] 주제 CAR에서, 예를 들면, 주제 CAR의 첫 번째 폴리펩티드에서 이용에 적합한 신호 서열은 자연발생 신호 서열, 합성 (가령, 인공) 신호 서열 등을 비롯한 임의의 진핵 신호 서열을 포함한다.

[0241] *에피토프 태그*

[0242] 적합한 에피토프 태그에는 적혈구응집소 (HA; 가령, YPYDVPDYA (서열 번호:122); FLAG (가령, DYKDDDDK (서열

번호:123); c-myc (가령, EQKLISEEDL; 서열 번호:4), 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0243] *친화성 도메인*

[0244] 친화성 도메인은 확인 또는 정제에 유용한 결합 상대, 예를 들면, 예로서 고체 지지체 위에 고정된 것과 상호작용할 수 있는 펩티드 서열을 포함한다. 발현된 단백질에 융합될 때, 복수 연속성 단일 아미노산, 예를 들면, 히스티딘을 인코딩하는 DNA 서열은 수지 칼럼, 예를 들면, 니켈 세파로오스에 높은 친화성 결합에 의한 재조합 단백질의 일-단계 정제에 이용될 수 있다. 예시적인 친화성 도메인은 His5 (HHHHH) (서열 번호:124), HisX6 (HHHHHH) (서열 번호:125), C-myc (EQKLISEEDL) (서열 번호:4), Flag (DYKDDDDK) (서열 번호:123), StrepTag (WSHPQFEK) (서열 번호:126), 혈구응집소, 예를 들면, HA 태그 (YPYDVPDYA) (서열 번호:122), GST, 티오레독신, 셀룰로오스 결합 도메인, RYIRS (서열 번호:127), Phe-His-His-Thr (서열 번호:128), 키틴 결합 도메인, S-펩티드, T7 펩티드, SH2 도메인, C-단부 RNA 태그, WEAAAREACCRECCARA (서열 번호:129), 금속 결합 도메인, 예를 들면, 아연 결합 도메인 또는 칼슘 결합 도메인, 예를 들면, 칼슘-결합 단백질, 예를 들면, 칼모듈린, 트로포닌 C, 칼시뉴린 B, 미오신 경쇄, 리코베린, S-모듈린, 비시닌, VILIP, 뉴로칼신, 히포칼신, 프레쿠에닌, 칼트락틴, 칼페인 큰-아단위, S100 단백질, 파브알부민, 칼빈딘 D9K, 칼빈딘 D28K와 칼레티닌으로부터 것들, 인테인, 비오틴, 스트렙타비딘, MyoD, Id, 류신 지퍼 서열, 그리고 말토오스 결합 단백질을 포함한다.

[0245] *검출가능한 신호-생산 폴리펩티드*

[0246] 적합한 검출가능한 신호-생산 단백질은 예로서, 형광 단백질; 검출가능한 신호를 산물로서 산출하는 반응을 촉매작용하는 효소; 기타 등등을 포함한다.

[0247] 적합한 형광 단백질에는 녹색 형광 단백질 (GFP) 또는 이의 변이체, GFP의 청색 형광 변이체 (BFP), GFP의 시안색 형광 변이체 (CFP), GFP의 황색 형광 변이체 (YFP), 증강된 GFP (EGFP), 증강된 CFP (ECFP), 증강된 YFP (EYFP), GFPS65T, 에메랄드, 토파즈 (TYFP), 비너스, 담황색, mCitrine, GFPuv, 불안정화된 EGFP (dEGFP), 불안정화된 ECFP (dECFP), 불안정화된 EYFP (dEYFP), mCFPm, 세루리안, T-Sapphire, CyPet, YPet, mKO, HcRed, t-HcRed, DsRed, DsRed2, DsRed-단위체, J-레드, 이합체2, t-이합체2(12), mRFP1, 포실로포린, 레닐라 GFP, 몬스터 GFP, paGFP, 카에데 단백질과 점화현상 단백질, 피코빌리단백질, 그리고 B-피코에리트린, R-피코에리트린과 알로피코시아닌을 포함하는 피코빌리단백질 접합체가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 형광 단백질의 다른 실례는 mHoneydew, mBanana, mOrange, dTomato, tdTomato, mTangerine, mStrawberry, mCherry, mGrape1, mRaspberry, mGrape2, mPlum (Shaner et al. (2005) *Nat. Methods* 2:905-909), 기타 등등을 포함한다. 예로서, Matz et al. (1999) *Nature Biotechnol.* 17:969-973에서 설명된 바와 같은, 산호충류 (Anthozoan) 종으로부터 다양한 형광과 착색된 단백질 중에서 한 가지가 이용에 적합하다.

[0248] 적합한 효소에는 양고추냉이 과산화효소 (HRP), 알칼리 인산분해효소 (AP), 베타-갈락토시다아제 (GAL), 글루코오스-6-인산탈수소효소, 베타-N-아세틸글루코사미니다아제, β-글루쿠론산분해효소, 전화효소, 크산틴 옥시다아제, 개똥벌레 루시페라아제, 글루코오스 옥시다아제 (GO), 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0249] 서열의 재조합

[0250] 일정한 사례에서, CAR, 예를 들면, CAR 도메인의 폴리펩티드의 서열은 부위 특이적 재조합 기술의 이용을 통해 세포에서 재정렬되거나 또는 결실될 수 있다. 일정한 구체예에서, 특정 CAR에 세포 활성화-관련된 반응은 부위 특이적 재조합에 의해 변화될 수 있다, 예를 들면, 첫 번째 활성화-관련된 반응을 이끌어내는 CAR의 첫 번째 세포내 신호전달 도메인은 두 번째 활성화-관련된 반응을 이끌어내는 두 번째 세포내 신호전달 도메인에 대해 교환될 수 있다. 일정한 사례에서, CAR의 특정 이합체화체에 반응은 부위 특이적 재조합에 의해 변화될 수 있다, 예를 들면, 첫 번째 이합체화체의 존재에서 CAR의 이합체화를 유발하는 첫 번째 이합체화체-결합 쌍은 두 번째 이합체화체의 존재에서 CAR의 이합체화를 유발하는 두 번째 이합체화체-결합 쌍에 대해 교환될 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, CAR의 임의의 도메인 또는 서열을 본원에서 개시된 바와 같은 임의의 다른 도메인 또는 서열로 교환하기 위해 부위 특이적 재조합이 세포에서 이용될 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, CAR의 임의의 도메인 또는 서열을 결실시키기 위해 부위 특이적 재조합이 세포에서 이용될 수 있다. 서열과 도메인의 이런 교환과 절제는 당분야에서 공지된다, 예를 들면, Tone et al. (2013) *Biotechnology and Bioengineering*, 3219-3226에서 설명된 바와 같은 시그날로바디에서 도메인 전환을 참조하고, 이의 공개는 본원에 참조로서 개시된다. 생체내에서 부위 특이적 재조합을 수행하기 위한 기전과 요건 역시 당분야에서 널리 공지되고, 예로서 Grindley et al. (2006) *Annual Review of Biochemistry*, 567-605 및 Tropp (2012) Molecular Biology (Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, MA)를 참조하고, 이들의 공개는 본원에 참조로서 편입된다.

[0251] **핵산**

[0252] 본 발명은 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산은 일부 구체예에서, 예로서 재조합 발현 벡터를 포함하는 DNA일 것이다. 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산은 일부 구체예에서, RNA, 예를 들면, 시험관내 합성된 RNA일 것이다.

[0253] 일부 경우에, 본 발명의 핵산은 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 단지 첫 번째 폴리펩티드만을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다 (그리고, 두 번째 폴리펩티드를 포함하지 않음). 일부 경우에, 본 발명의 핵산은 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 단지 두 번째 폴리펩티드만을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다 (그리고, 첫 번째 폴리펩티드를 포함하지 않음). 일부 경우에, 본 발명의 핵산은 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 폴리펩티드와 두 번째 폴리펩티드 둘 모두를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0254] 일부 경우에, 주제 핵산은 예로서, 포유류 세포에서 본 발명의 CAR의 생산을 제공한다. 다른 경우에, 주제 핵산은 CAR-인코딩 핵산의 증폭을 제공한다.

[0255] 본 발명의 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 전사 제어 원소, 예를 들면, 프로모터, 그리고 인핸서 등에 작동가능하게 연결될 수 있다.

[0256] 적합한 프로모터와 인핸서 원소는 당분야에서 공지된다. 세균 세포에서 발현을 위해, 적합한 프로모터에는 lacI, lacZ, T3, T7, gpt, 람다 P와 trc가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 진핵 세포에서 발현을 위해, 적합한 프로모터에는 경쇄 및/또는 중쇄 면역글로불린 유전자 프로모터와 인핸서 원소; 시토메갈로바이러스 극초기 프로모터; 단순 헤르페스 바이러스 티미딘 키나아제 프로모터; 초기와 후기 SV40 프로모터; 레트로바이러스로부터 긴 말단 반복 내에 존재하는 프로모터; 생쥐 메탈로티오닌-I 프로모터; 그리고 다양한 공지된 조직 특이적 프로모터가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0257] 가역성 유도성 프로모터를 비롯한 적합한 가역성 프로모터는 당분야에서 공지된다. 이런 가역성 프로모터는 많은 생물체, 예를 들면, 진핵생물과 원핵생물로부터 단리되고 유래될 수 있다. 두 번째 생물체에서 이용을 위한 첫 번째 생물체, 예를 들면, 첫 번째 원핵생물과 두 번째 진핵생물, 첫 번째 진핵생물과 두 번째 원핵생물, 기타 등등으로부터 유래된 가역성 프로모터의 변형은 당분야에서 널리 공지된다. 이런 가역성 프로모터, 그리고 이런 가역성 프로모터에 기초되지만 추가 제어 단백질을 또한 포함하는 시스템에는 알코올 조절된 프로모터 (가령, 알코올 탈수소효소 I (alcA) 유전자 프로모터, 알코올 전이활성인자 단백질 (AlcR)에 반응성인 프로모터 등), 테트라사이클린 조절된 프로모터, (가령, TetActivators, TetON, TetOFF 등을 포함하는 프로모터 시스템), 스테로이드 조절된 프로모터 (가령, 쥐 글루코코르티코이드 수용체 프로모터 시스템, 인간 에스트로겐 수용체 프로모터 시스템, 레티노이드 프로모터 시스템, 갑상선 프로모터 시스템, 탈피호르몬 프로모터 시스템, 미페프리스톤 프로모터 시스템 등), 금속 조절된 프로모터 (가령, 메탈로티오네인 프로모터 시스템 등), 병인-관련된 조절된 프로모터 (가령, 살리실산 조절된 프로모터, 에틸렌 조절된 프로모터, 벤조티아디아졸 조절된 프로모터 등), 온도 조절된 프로모터 (가령, 열 쇼크 유도성 프로모터 (가령, HSP-70, HSP-90, 콩 열 쇼크 프로모터 등), 광 조절된 프로모터, 합성 유도성 프로모터, 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0258] 일부 경우에, 적합한 프로모터를 내포하는 좌위 또는 구조체 또는 도입유전자는 유도성 시스템의 유도를 통해 비가역적으로 전환된다. 비가역성 전환의 유도를 위한 적합한 시스템은 당분야에서 널리 공지된다, 예를 들면, 비가역성 전환의 유도는 Cre-lox-매개된 재조합을 이용할 수 있다 (가령, Fuhrmann-Benzakein, et al., *PNAS* (2000) 28:e99를 참조하고, 이의 공개는 본원에 참조로서 편입된다). 당분야에 공지된 재조합효소, 엔도뉴클레아제, 리가아제, 재조합 부위 등의 임의의 적절한 조합이 비가역적으로 전환가능 프로모터를 산출하는데 이용될 수 있다. 본원의 다른 곳에서 설명된, 부위 특이적 재조합을 수행하기 위한 방법, 기전, 그리고 요건은 비가역적으로 전환된 프로모터를 산출하는데 용도를 발견하고 당분야에서 널리 공지된다, 가령, Grindley et al. (2006) *Annual Review of Biochemistry*, 567-605 및 Tropp (2012) Molecular Biology (Jones & Bartlett Publishers, Sudbury, MA)를 참조하고, 이들의 공개는 본원에 참조로서 편입된다.

[0259] 일부 경우에, 프로모터는 CD8 세포 특이적 프로모터, CD4 세포 특이적 프로모터, 호중구-특이적 프로모터, 또는 NK-특이적 프로모터이다. 가령, CD4 유전자 프로모터가 이용될 수 있다; 가령, Salmon et al. (1993) *Proc.*

Natl. Acad. Sci. USA 90:7739; 그리고 Marodon et al. (2003) *Blood* 101:3416을 참조한다. 다른 실례로서, CD8 유전자 프로모터가 이용될 수 있다. NK 세포 특이적 발현은 *Ncr1* (*p46*) 프로모터의 이용에 의해 달성될 수 있다; 가령, Eckelhart et al. (2011) *Blood* 117:1565를 참조한다.

[0260] 일부 구체예에서, 예로서 효모 세포에서 발현을 위해, 적합한 프로모터는 구조성 프로모터, 예를 들면, ADH1 프로모터, PGK1 프로모터, ENO 프로모터, PYK1 프로모터 등; 또는 조절가능 프로모터, 예를 들면, GAL1 프로모터, GAL10 프로모터, ADH2 프로모터, pH 프로모터, CUP1 프로모터, GAL7 프로모터, MET25 프로모터, MET3 프로모터, CYC1 프로모터, HIS3 프로모터, ADH1 프로모터, PGK 프로모터, GAP 프로모터, ADC1 프로모터, TRP1 프로모터, URA3 프로모터, LEU2 프로모터, ENO 프로모터, TP1 프로모터, 그리고 AOX1 (가령, 피치아 (*Pichia*)에서 이용을 위해)이다. 적절한 벡터와 프로모터의 선별은 당분야에서 일상적인 기술의 수준 내에 있다.

[0261] 원핵 숙주 세포에서 이용을 위한 적합한 프로모터에는 박테리오파지 T7 RNA 중합효소 프로모터; trp 프로모터; lac 오페론 프로모터; 하이브리드 프로모터, 예를 들면, lac/tac 하이브리드 프로모터, tac/trc 하이브리드 프로모터, trp/lac 프로모터, T7/lac 프로모터; trc 프로모터; tac 프로모터, 기타 등등; araBAD 프로모터; 생체내 조절된 프로모터, 예를 들면, *ssaG* 프로모터 또는 관련된 프로모터 (가령, U.S. 특허 공개 번호 20040131637을 참조한다), *pagC* 프로모터 (Pulkkinen and Miller, *J. Bacteriol.*, 1991: 173(1): 86-93; Alpuche-Aranda et al., PNAS, 1992; 89(21): 10079-83), *nirB* 프로모터 (Harborne et al. (1992) *Mol. Micro.* 6:2805-2813) 등 (가령, Dunstan et al. (1999) *Infect. Immun.* 67:5133-5141; McKelvie et al. (2004) *Vaccine* 22:3243-3255; 그리고 Chatfield et al. (1992) *Biotechnol.* 10:888-892를 참조한다); sigma70 프로모터, 예를 들면, 공통 sigma70 프로모터 (가령, GenBank 수탁 번호 AX798980, AX798961, 그리고 AX798183을 참조한다); 정지기 프로모터, 예를 들면, *dps* 프로모터, *spv* 프로모터 등; 병원성 섬 SPI-2로부터 유래된 프로모터 (가령, WO96/17951을 참조한다); actA 프로모터 (가령, Shetron-Rama et al. (2002) *Infect. Immun.* 70:1087-1096을 참조한다); rpsM 프로모터 (가령, Valdivia and Falkow (1996). *Mol. Microbiol.* 22:367을 참조한다); tet 프로모터 (가령, Hillen,W. and Wissmann,A. (1989) In Saenger,W. and Heinemann,U. (eds), *Topics in Molecular and Structural Biology, Protein-Nucleic Acid Interaction*. Macmillan, London, UK, Vol. 10, pp. 143-162를 참조한다); SP6 프로모터 (가령, Melton et al. (1984) *Nucl. Acids Res.* 12:7035를 참조한다); 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 원핵생물, 예를 들면, 대장균 (*Escherichia coli*)에서 이용을 위한 적합한 강한 프로모터에는 Trc, Tac, T5, T7, 그리고 $P_{람다}$가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 세균 숙주 세포에서 이용을 위한 오퍼레이터의 무제한적 실례는 락토오스 프로모터 오퍼레이터 (LacI 억제인자 단백질은 락토오스와 접촉될 때 입체형태를 변화시키고, 따라서 LacI 억제인자 단백질이 오퍼레이터에 결합하는 것을 예방한다), 트립토판 프로모터 오퍼레이터 (트립토판으로 복합화될 때, TrpR 억제인자 단백질은 오퍼레이터에 결합하는 입체형태를 갖는다; 트립토판의 부재에서, TrpR 억제인자 단백질은 오퍼레이터에 결합하지 않는 입체형태를 갖는다), 그리고 tac 프로모터 오퍼레이터 (가령, deBoer et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25를 참조한다)를 포함한다.

[0262] 주제 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 발현 벡터 및/또는 클로닝 벡터 내에 존재할 수 있다. 주제 CAR이 2개의 별개의 폴리펩티드를 포함하는 경우에, 2개의 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 동일한 또는 별개의 벡터에서 클로닝될 수 있다. 발현 벡터는 선별가능 마커, 복제 기점, 그리고 벡터의 복제 및/또는 유지를 제공하는 다른 특질을 포함할 수 있다. 적합한 발현 벡터는 예로서, 플라스미드, 바이러스 벡터, 기타 등등을 포함한다.

[0263] 다수의 적합한 벡터와 프로모터는 당업자에게 공지되어 있다; 주제 재조합 구조체를 산출하기 위한 다수가 상업적으로 가용하다. 다음의 벡터는 실례로서 제공된다. 세균: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, 그리고 pRIT5 (Pharmacia, Uppsala, Sweden). 진핵: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene) pSVK3, pBPV, pMSG, 그리고 pSVL (Pharmacia).

[0264] 발현 벡터는 일반적으로, 이종성 단백질을 인코딩하는 핵산 서열의 삽입을 제공하기 위해 프로모터 서열에 근접하게 위치된 편의한 제한 부위를 갖는다. 발현 숙주에서 작동하는 선별가능 마커가 존재할 수 있다. 적합한 발현 벡터에는 바이러스 벡터 (가령, 우두 바이러스에 기초된 바이러스 벡터; 폴리오바이러스; 아데노바이러스 (가령, Li et al., Invest Opthalmol Vis Sci 35:2543 2549, 1994; Borras et al., Gene Ther 6:515 524, 1999; Li and Davidson, PNAS 92:7700 7704, 1995; Sakamoto et al., H Gene Ther 5:1088 1097, 1999; WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655를 참조한다); 아데노-연관된

바이러스 (가령, Ali et al., Hum Gene Ther 9:81 86, 1998, Flannery et al., PNAS 94:6916 6921, 1997; Bennett et al., Invest Opthalmol Vis Sci 38:2857 2863, 1997; Jomary et al., Gene Ther 4:683 690, 1997, Rolling et al., Hum Gene Ther 10:641 648, 1999; Ali et al., Hum Mol Genet 5:591 594, 1996; WO 93/09239에서 Srivastava, Samulski et al., J. Vir. (1989) 63:38223828; Mendelson et al., Virol. (1988) 166:154165; 그리고 Flotte et al., PNAS (1993) 90:1061310617을 참조한다); SV40; 단순 헤르페스 바이러스; 인간 면역결핍 바이러스 (가령, Miyoshi et al., PNAS 94:10319 23, 1997; Takahashi et al., J Virol 73:7812 7816, 1999를 참조한다); 레트로바이러스 벡터 (가령, 뮤린 백혈병 바이러스, 비장 괴사 바이러스, 그리고 레트로바이러스, 예를 들면, 라우스 육종 바이러스, 하비 육종 바이러스, 조류 백혈증 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스, 골수증식성 육종 바이러스 및 유방 종양 바이러스로부터 유래된 벡터); 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0265] 전술한 바와 같이, 일부 구체예에서, 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산은 일부 구체예에서 RNA, 예를 들면, 시험관내 합성된 RNA일 것이다. RNA의 시험관내 합성을 위한 방법은 당분야에서 공지된다; 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA를 합성하는데 임의의 공지된 방법이 이용될 수 있다. RNA를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 방법은 당분야에서 공지된다. 가령, Zhao et al. (2010) Cancer Res. 15:9053을 참조한다. 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA를 숙주 세포 내로 도입하는 것은 시험관내에서 또는 탈체에서 또는 생체내에서 수행될 수 있다. 가령, 숙주 세포 (가령, NK 세포, 세포독성 T 림프구 등)는 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 첫 번째 및/또는 두 번째 폴리펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNA로 시험관내에서 또는 탈체에서 전기천공될 수 있다.

[0266] **세포**

[0267] 본 발명은 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 생산하도록 유전적으로 변형된 포유류 세포를 제공한다.

[0268] 적합한 포유류 세포는 일차 세포와 영속화된 세포주를 포함한다. 적합한 포유류 세포주는 인간 세포주, 비-인간 영장류 세포주, 설치류 (가령, 생쥐, 쥐) 세포주, 기타 등등을 포함한다. 적합한 포유류 세포주에는 HeLa 세포 (가령, American Type Culture Collection (ATCC) 번호 CCL-2), CHO 세포 (가령, ATCC 번호 CRL9618, CCL61, CRL9096), 293 세포 (가령, ATCC 번호 CRL-1573), Vero 세포, NIH 3T3 세포 (가령, ATCC 번호 CRL-1658), Huh-7 세포, BHK 세포 (가령, ATCC 번호 CCL10), PC12 세포 (ATCC 번호 CRL1721), COS 세포, COS-7 세포 (ATCC 번호 CRL1651), RAT1 세포, 생쥐 L 세포 (ATCC 번호 CCLI.3), 인간 배아 신장 (HEK) 세포 (ATCC 번호 CRL1573), HLHepG2 세포, Hut-78, Jurkat, HL-60, NK 세포주 (가령, NKL, NK92, 그리고 YTS), 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0269] 일부 경우에, 세포는 영속화된 세포주가 아니고, 그 대신에 개체로부터 획득된 세포 (가령, 일차 세포)이다. 가령, 일부 경우에, 세포는 개체로부터 획득된 면역 세포이다. 실례로서, 세포는 개체로부터 획득된 T 림프구이다. 다른 실례로서, 세포는 개체로부터 획득된 세포독성 세포이다. 다른 실례로서, 세포는 개체로부터 획득된 줄기 세포 또는 선조체 세포이다.

[0270] **면역 세포를 활성화하는 방법**

[0271] 본 발명은 시험관내에서, 생체내에서, 또는 탈체에서 면역 세포를 활성화하는 방법을 제공한다. 이들 방법은 일반적으로, 면역 세포 (시험관내, 생체내, 또는 탈체)를 이합체화 작용제 및 항원과 접촉시키는 것을 수반하고, 여기서 면역 세포는 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 생산하도록 유전적으로 변형된다. 이합체화 작용제 및 항원의 존재에서, 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR은 이합체화하고 면역 세포를 활성화시키고, 따라서 활성화된 면역 세포를 생산한다. 면역 세포는 예로서, 세포독성 T 림프구, NK 세포, $CD4^+$ T 세포, T 조절 (Treg) 세포 등을 포함한다.

[0272] 유전적으로 변형된 면역 세포 (가령, T 림프구, NK 세포)를 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원 (가령, 항원, 리간드, 수용체)와 접촉시키는 것은 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원 및/또는 이합체화 작용제의 부재에서 면역 세포에 의해 생산된 사이토킨의 양과 비교하여, 면역 세포에 의한 사이토킨의 생산을 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증

가시킬 수 있다. 생산이 증가될 수 있는 사이토킨에는 IL-2와 IFN-γ이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0273] 유전적으로 변형된 면역 세포 (가령, T 림프구, NK 세포)를 이합체화 작용제 및 항원과 접촉시키는 것은 항원 및/또는 이합체화 작용제의 부재에서 면역 세포에 의해 생산된 사이토킨의 양과 비교하여, 면역 세포에 의한 사이토킨의 생산을 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증가시킬 수 있다. 생산이 증가될 수 있는 사이토킨에는 IL-2와 IFN-γ이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0274] 유전적으로 변형된 세포독성 세포 (가령, 세포독성 T 림프구)를 이합체화 작용제 및 특이적 결합 쌍의 두 번째 구성원 (가령, 항원, 리간드, 수용체)과 접촉시키는 것은 이합체화 작용제의 부재에서 세포독성 세포의 세포독성 활성과 비교하여, 세포독성 세포의 세포독성 활성을 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증가시킬 수 있다.

[0275] 유전적으로 변형된 세포독성 세포 (가령, 세포독성 T 림프구)를 이합체화 작용제 및 항원과 접촉시키는 것은 이합체화 작용제의 부재에서 세포독성 세포의 세포독성 활성과 비교하여, 세포독성 세포의 세포독성 활성을 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증가시킬 수 있다.

[0276] 다른 구체예에서, 예로서, 숙주 면역 세포에 따라, 유전적으로 변형된 숙주 세포를 이합체화 작용제 및 항원과 접촉시키는 것은 세포 증식, 세포 생존, 세포 사멸 등을 증가 또는 감소시킬 수 있다.

[0277] **조건적으로 활성화가능 세포를 산출하는 방법**

[0278] 본 발명은 조건적으로 활성화가능 세포를 산출하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 일반적으로, 포유류 세포를 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터, 또는 RNA (가령, 시험관내 전사된 RNA)로 유전적으로 변형하는 것을 수반한다. 유전적으로 변형된 세포는 a) CAR의 첫 번째 폴리펩티드가 결합하는 항원; 그리고 b) 이합체화체 (이합체화 작용제)의 존재에서 조건적으로 활성화가능하다. 유전자 변형은 생체내, 시험관내, 또는 탈체에서 수행될 수 있다. 세포는 면역 세포 (가령, T 림프구 또는 NK 세포), 줄기 세포, 선조체 세포 등일 수 있다.

[0279] 일부 경우에, 유전자 변형은 탈체에서 수행된다. 예로서, T 림프구, 줄기 세포, 또는 NK 세포는 개체로부터 획득된다; 그리고 개체로부터 획득된 세포는 본 발명의 CAR을 발현하도록 유전적으로 변형된다. 유전적으로 변형된 세포는 a) CAR의 첫 번째 폴리펩티드가 결합하는 항원; 그리고 b) 이합체화체의 존재에서 조건적으로 활성화가능하다. 일부 경우에, 유전적으로 변형된 세포는 탈체에서 활성화된다. 다른 경우에, 유전적으로 변형된 세포는 개체 (가령, 세포가 획득되었던 개체) 내로 도입된다; 그리고 유전적으로 변형된 세포는 예로서, 이합체화체를 상기 개체에 투여함으로써 생체내에서 활성화된다. 예로서, 항원이 개체에서 세포의 표면 상에 존재하는 경우에, 항원을 투여하는 것이 필요하지 않다. 유전적으로 변형된 세포는 개체에서 세포의 표면 상에 존재하는 항원과 접촉한다; 그리고, 개체에 이합체화체의 투여 시에, 유전적으로 변형된 세포가 활성화된다. 예로서, 유전적으로 변형된 세포가 T 림프구인 경우에, 유전적으로 변형된 세포는 CAR이 결합하는 표면 상에 항원을 제시하는 세포를 향하여 세포독성을 전시할 수 있다.

[0280] **치료 방법**

[0281] *본 발명은 주제 CAR을 이용한 다양한 치료 방법을 제공한다.

[0282] **세포독성 방법**

[0283] 본 발명의 CAR은 T 림프구 또는 NK 세포에서 존재할 때, 표적 세포를 향하여 세포독성을 매개할 수 있다. 본 발명의 CAR은 표적 세포 상에 존재하는 항원에 결합하고, 따라서 CAR을 생산하도록 유전적으로 변형된 T 림프구 또는 NK 세포에 의해 표적 세포의 사멸을 매개한다. CAR의 항원 결합 도메인은 표적 세포의 표면 상에 존재하는 항원에 결합한다.

[0284] 표적 세포에는 암 세포가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 따라서, 본 발명은 표적 암 세포를 사멸시키거나, 또는 이의 성장을 저해하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 T 림프구 또는 NK 세포가 표적 암 세포의 표면 상에 존재하는 항원을 인식하고, 그리고 표적 세포의 사멸을 매개하도록, 주제 CAR을 생산하도록 유

전적으로 변형되는 세포독성 면역 작동체 세포 (가령, 세포독성 T 세포, 또는 NK 세포)를 접촉시키는 것을 수반한다.

[0285] 본 발명은 암을 갖는 개체에서 암을 치료하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 다음을 포함한다: i) 개체로부터 획득된 T 림프구를 본 발명의 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터로 유전적으로 변형하고, 여기서 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 항원 결합 도메인은 개체 내에 암 세포 상에 에피토프에 특이적이고, 그리고 여기서 상기 유전자 변형은 탈체에서 수행되고; ii) 유전적으로 변형된 T 림프구를 개체 내로 도입하고; 그리고 iii) 이합체화 작용제의 효과량을 개체에 투여하고, 여기서 이합체화 작용제는 이형이합체성, 조건적으로 활성 CAR의 이합체화를 유도하고, 여기서 상기 이합체화는 유전적으로 변형된 T 림프구의 활성화 및 암 세포의 사멸을 제공하고, 따라서 암을 치료한다.

[0286] 본원에서 개시된 방법에 의한 요법에 순응할 수 있는 암종에는 식도 암종, 간세포 암종, 기저 세포 암종 (피부암의 한 형태), 편평상피 세포 암종 (다양한 조직), 이행 세포 암종 (방광의 악성 신생물)을 비롯한 방광 암종, 기관지유래 암종, 결장 암종, 대장 암종, 위 암종, 폐의 소세포 암종과 비소세포 암종을 비롯한 폐 암종, 부신피질 암종, 갑상선 암종, 췌장 암종, 유방 암종, 난소 암종, 전립선 암종, 선암종, 한선 암종, 피지선 암종, 유두상 암종, 유두상 선암종, 낭선암종, 수질성 암종, 신장 세포 암종, 제자리 관 암종 또는 담관 암종, 융모막암종, 정상피종, 배아 암종, 윌름 종양, 경부 암종, 자궁 암종, 고환 암종, 골원성 암종, 상피 암종, 그리고 코인두 암종이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0287] 본원에서 개시된 방법에 의한 요법에 순응할 수 있는 육종에는 섬유육종, 점액육종, 지방육종, 연골육종, 척삭종, 골원성 육종, 골육종, 혈관육종, 내피육종, 림프관육종, 림프관내피육종, 활막종, 중피종, 유잉 육종, 평활근육종, 횡문근육종, 그리고 다른 연조직 육종이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0288] 본원에서 개시된 방법에 의한 요법에 순응할 수 있는 다른 고형 종양에는 신경교종, 성상세포종, 수모세포종, 두개인두종, 상의세포종, 송과체종, 혈관모세포종, 청신경집종, 희돌기교종, 수막종, 흑색종, 신경모세포종, 그리고 망막모세포종이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0289] 본원에서 개시된 방법에 의한 요법에 순응할 수 있는 백혈병에는 a) 만성 골수증식성 증후군 (다능성 조혈 줄기세포의 신생물 장애); b) 급성 골수성 백혈병 (한정된 계통 잠재력의 다능성 조혈 줄기 세포 또는 조혈 세포의 신생물 변형; c) B-세포 CLL, T-세포 CLL 전림프구성 백혈병, 그리고 모양 세포성 백혈병을 비롯한 만성 림프성 백혈병 (CLL; 면역학적으로 미성숙하고 기능적으로 무능한 작은 림프구의 클론 증식); 그리고 d) 급성 림프모구성 백혈병 (림프모구의 축적에 의해 특징화됨)이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 주제 방법을 이용하여 치료될 수 있는 림프종에는 B-세포 림프종 (가령, 버킷 림프종); 호지킨 림프종; 비호지킨 림프종 등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0290] 본원에서 개시된 방법에 따른 치료에 순응할 수 있는 다른 암은 비정형성 수막종 (뇌), 도세포 암종 (췌장), 수질성 암종 (갑상선), 간엽종 (장), 간세포 암종 (간), 간모세포종 (간), 투명 세포 암종 (신장), 그리고 신경섬유종 종격을 포함한다.

[0291] **면역조정 방법**

[0292] 주제 방법은 염증성 병태 및 자가면역 질환을 치료하는데 또한 이용될 수 있다. 주제 CAR은 면역조정성 방법에서 이용을 위한 T-보조 세포 또는 Tregs에서 발현된다. 면역조정성 방법은 예로서, 병원체를 향하여 포유류 개체에서 면역 반응을 증강하고; 면역손상된 개체에서 면역 반응을 증강하고; 염증 반응을 감소시키고; 예로서, 자가면역 질환을 치료하기 위해 포유류 개체에서 자가항원에 대한 면역 반응을 감소시키고; 그리고 장기 또는 조직 거부를 감소시키기 위해, 포유류 개체에서 이식된 장기 또는 조직에 대한 면역 반응을 감소시키는 것을 포함한다.

[0293] 상기 방법이 자가항원에 대한 면역 반응을 감소시키는 것을 수반하는 경우에, CAR을 활성화시키는데 이용된 항원은 자가항원이다. 상기 방법이 이식된 장기 또는 조직에 대한 면역 반응을 감소시키는 것을 수반하는 경우에, CAR을 활성화시키는데 이용된 항원은 이식된 장기에 특이적인 항원이다.

[0294] **제제, 용량, 그리고 투여 루트**

[0295] 앞서 논의된 바와 같이, 본 발명의 치료 방법은 치료가 필요한 개체에 효과량의 이합체화체 작용제를 투여하는 것을 수반하고, 그리고 또한, 항원을 투여하는 것을 수반할 수 있다.

[0296] 이합체화체 작용제의 "효과량"은 일부 경우에, 치료가 필요한 개체에 하나 또는 그 이상의 분량으로 투여될 때,

주제 CAR을 발현하는 T 림프구의 세포독성 활성의 수준을 이합체화 작용제의 부재에서 T 림프구의 세포독성 활성과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증가시키는 양이다.

[0297] 이합체화체 작용제의 "효과량"은 일부 경우에, 치료가 필요한 개체에 하나 또는 그 이상의 분량으로 투여될 때, 주제 CAR을 발현하는 NK 세포의 세포독성 활성의 수준을 이합체화 작용제의 부재에서 NK 세포의 세포독성 활성과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 최소한 약 2-배, 최소한 약 2.5-배, 최소한 약 5-배, 최소한 약 10-배, 또는 10-배 보다 많이 증가시키는 양이다.

[0298] 이합체화체 작용제의 "효과량"은 일부 경우에, 치료가 필요한 개체에 하나 또는 그 이상의 분량으로 투여될 때, 개체에서 암 세포의 숫자 및/또는 개체에서 종양 질량을 이합체화 작용제의 부재에서 암 세포의 숫자 및/또는 종양 질량과 비교하여, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 75%, 또는 75% 보다 많이 감소시키는 양이다.

[0299] 일부 구체예에서, 이합체화체의 효과량은 단독으로 (가령, 단일요법에서) 또는 하나 또는 그 이상의 추가 치료적 작용제와 합동으로 (가령, 복합 요법에서) 하나 또는 그 이상의 분량에서 투여될 때, 종양 성장률, 암 세포 수, 그리고 종양 질량 중에서 하나 또는 그 이상을 이합체화체로 치료의 부재에서 종양 성장률, 암 세포 수, 또는 종양 질량과 비교하여, 최소한 약 5%, 최소한 약 10%, 최소한 약 15%, 최소한 약 20%, 최소한 약 25%, 최소한 약 30%, 최소한 약 40%, 최소한 약 50%, 최소한 약 60%, 최소한 약 70%, 최소한 약 80%, 최소한 약 90%, 또는 그 이상 감소시키는데 효과적인 양이다.

[0300] 제제

[0301] 주제 방법에서, 이합체화체는 원하는 치료 효과 또는 진단적 효과를 유발할 수 있는 임의의 편의한 수단을 이용하여 숙주에 투여될 수 있다. 따라서, 이합체화체는 치료적 투여를 위한 다양한 제제 내로 통합될 수 있다. 더욱 구체적으로, 이합체화체는 적절한, 제약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와의 조합에 의해 제약학적 조성물로 조제될 수 있고, 그리고 고체, 반고체, 액체 또는 가스 형태, 예를 들면, 정제, 캡슐, 분말, 과립, 연고, 용액, 좌약, 주사, 흡입제와 에어로졸에서 제조물로 조제될 수 있다.

[0302] 제약학적 약형에서, 이합체화체는 그들의 제약학적으로 허용되는 염의 형태에서 투여될 수 있거나, 또는 이들은 또한, 단독으로 또는 적절한 연관에서 뿐만 아니라 다른 제약학적으로 활성 화합물과 합동으로 이용될 수 있다. 다음의 방법과 부형제는 단지 예시일 뿐이고 결코 제한하지 않는다.

[0303] 적합한 부형제 운반제는 예로서, 물, 식염수, 덱스트로스, 글리세롤, 에탄올등, 그리고 이들의 조합이다. 이에 더하여, 원하는 경우에, 운반제는 소량의 보조 물질, 예를 들면, 적심제 또는 유화제 또는 pH 완충제를 내포할 수 있다. 이런 약형을 제조하는 실제 방법은 알려져 있거나, 또는 당업자에게 명백할 것이다. 가령, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, 17th edition, 1985를 참조한다. 투여되는 조성물 또는 제제는 어떤 상황에서든, 치료되는 개체에서 원하는 상태를 달성하는데 적합한 이합체화체의 양을 내포한다.

[0304] 제약학적으로 허용되는 부형제, 예를 들면, 운반제, 어쥬번트, 담체 또는 희석제는 대중에게 쉽게 가용하다. 게다가, 제약학적으로 허용되는 보조 물질, 예를 들면, pH 조정제와 완충제, 긴장성 조정제, 안정제, 적심제 등은 대중에게 쉽게 가용하다.

[0305] 경구 제조물의 경우에, 이합체화체는 단독으로 또는 정제, 분말, 과립 또는 캡슐을 만드는데 적절한 첨가제와 합동으로, 예를 들면, 전통적인 첨가제, 예를 들면, 락토오스, 만니톨, 옥수수 전분 또는 감자 전분; 결합제, 예를 들면, 결정성 셀룰로오스, 셀룰로오스 유도체, 아카시아, 옥수수 전분 또는 젤라틴; 붕해제, 예를 들면, 옥수수 전분, 감자 전분 또는 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스; 윤활제, 예를 들면, 활석 또는 마그네슘 스테아르산염; 그리고 원하는 경우에, 희석제, 완충제, 흡습 작용제, 보존제 및 풍미제와 합동으로 이용될 수 있다.

[0306] 이합체화체는 그들을 수성 또는 비수성 용매, 예를 들면, 식물성 또는 다른 유사한 오일, 합성 지방족 산 글리세리드, 더욱 높은 지방족 산의 에스테르 또는 프로필렌 글리콜에서; 그리고 원하는 경우에, 전통적인 첨가제, 예를 들면, 용해화제, 등장성 작용제, 현탁제, 유화제, 안정제 및 보존제로 용해하거나, 현탁하거나 또는 유화함으로써 주사용 제조물로 조제될 수 있다.

[0307] 이합체화체를 포함하는 제약학적 조성물은 원하는 정도의 순도를 갖는 이합체화체를 임의선택적 생리학적으로 허용되는 담체, 부형제, 안정제, 계면활성제, 완충액 및/또는 긴장성 작용제와 혼합함으로써 제조된다. 허용되는 담체, 부형제 및/또는 안정제는 이용된 용량과 농도에서 수용자에 비독성이고, 그리고 완충액, 예를 들면, 인산염, 구연산염, 그리고 다른 유기 산; 아스코르빈산, 글루타티온, 시스테인, 메티오닌과 구연산을 비롯한 항산화제; 보존제 (가령, 에탄올, 벤질 알코올, 페놀, m-크레졸, p-클로르-m-크레졸, 메틸 또는 프로필 파라벤, 벤잘코늄 염화물, 또는 이들의 조합); 아미노산, 예를 들면, 아르기닌, 글리신, 오르니틴, 리신, 히스티딘, 글루타민산, 아스파르트산, 이소류신, 류신, 알라닌, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 메티오닌, 세린, 프롤린 및 이들의 조합; 단당류, 이당류와 다른 탄수화물; 저분자량 (약 10개 잔기보다 적음) 폴리펩티드; 단백질, 예를 들면, 젤라틴 또는 혈청 알부민; 킬레이트화제, 예를 들면, EDTA; 당, 예를 들면, 트레할로스, 수크로오스, 락토오스, 글루코오스, 만노오스, 말토오스, 갈락토오스, 프룩토오스, 소르보스, 라피노오스, 글루코사민, N-메틸글루코사민, 갈락토사민, 그리고 뉴라민산; 및/또는 비이온성 계면활성제, 예를 들면, Tween, Brij 플루로닉, Triton-X, 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.

[0308] 제약학적 조성물은 액체 형태, 냉동건조된 형태 또는 냉동건조된 형태로부터 재구성된 액체 형태일 수 있고, 여기서 냉동건조된 제조물은 투여에 앞서 무균 용액으로 재구성된다. 냉동건조된 조성물을 재구성하기 위한 표준 절차는 일 부피의 순수한 물 (전형적으로, 동결 건조 동안 제거된 부피에 동등)을 역으로 첨가하는 것이다; 하지만, 항세균제를 포함하는 용액이 비경구 투여를 위한 제약학적 조성물의 생산에 이용될 수 있다; 또한 Chen (1992) Drug Dev Ind Pharm 18, 1311-54를 참조한다.

[0309] 용어 "단위 약형"은 본원에서 이용된 바와 같이, 인간과 동물 개체에 대한 단위 용량으로서 적합한 물리적으로 구별된 단위를 지칭하고, 각 단위는 제약학적으로 허용되는 희석제, 담체 또는 운반제와 관련하여 원하는 효과를 생산하는데 충분한 양으로 계산된 미리 결정된 양의 이합체화체를 내포한다. 소정의 이합체화체에 대한 명세는 이용된 특정 이합체화체와 달성되는 효과, 그리고 숙주에서 각 이합체화체와 연관된 약력학에 의존할 수 있다.

[0310] 일부 구체예에서, 이합체화체는 제어된 방출 제제에서 조제된다. 지속된 방출 제조물은 당분야에서 널리 공지된 방법을 이용하여 제조될 수 있다. 지속된 방출 제조물의 적합한 실례는 이합체화체를 내포하는 고체 소수성 중합체의 반투성 매트릭스를 포함하고, 여기서 이들 매트릭스는 성형된 물품, 예를 들면, 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속된 방출 매트릭스의 실례는 폴리에스테르, L-글루타민산과 에틸-L-글루타민산염의 공중합체, 비분해성 에틸렌-비닐 아세트산염, 하이드로겔, 폴리락티드, 분해성 젖산-글리콜산 공중합체 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다. 생물학적 활성의 가능한 상실은 적절한 첨가제를 이용함으로써, 수분 함량을 제어함으로써, 그리고 특정한 중합체 매트릭스 조성물을 개발함으로써 예방될 수 있다.

[0311] 용량

[0312] 적합한 용량은 다양한 임상적 인자에 기초하여, 주치의 또는 다른 자격이 있는 의료인에 의해 결정될 수 있다. 의학 분야에서 널리 공지된 바와 같이, 임의의 환자에 대한 용량은 환자의 크기, 체표면적, 연령, 투여되는 특정 이합체화체, 환자의 성별, 투여의 시간과 루트, 전반적인 건강, 그리고 동시에 투여되는 다른 약물을 비롯한 많은 인자에 의존한다. 이합체화체는 복용당 1 ng/kg 체중 내지 20 mg/kg 체중, 예를 들면, 0.1 mg/kg 체중 내지 10 mg/kg 체중, 예를 들면, 0.5 mg/kg 체중 내지 5 mg/kg 체중의 양으로 투여될 수 있다; 하지만, 전술한 인자를 특히 고려하여, 이러한 예시적인 범위 미만 또는 초과의 분량이 구상된다. 섭생이 연속적 주입이면, 이것은 또한, 분당 체중의 1 μg 내지 10 mg 킬로그램의 범위에 있을 수 있다.

[0313] 당업자는 분량 수준이 특정한 이합체화체, 증상의 심각도 및 부작용에 대한 개체의 감수성의 함수로서 변할 수 있다는 것을 쉽게 인지할 것이다. 제공된 화합물에 대한 바람직한 용량은 다양한 수단에 의해 당업자에 의해 쉽게 결정가능하다.

[0314] 투여 루트

[0315] 이합체화체는 생체내와 탈체 방법뿐만 아니라 전신과 국부화된 투여 루트를 비롯하여, 약물 전달에 적합한 임의의 가용한 방법과 루트를 이용하여 개체에 투여된다.

[0316] 전통적이고 제약학적으로 허용되는 투여 루트는 종양내, 종양주위, 근육내, 기관내, 두개내, 피하, 피내, 국소적용, 정맥내, 동맥내, 직장, 코, 경구, 그리고 다른 경장과 비경구 투여 루트를 포함한다. 투여 루트는 원하는 경우에 합동되거나, 또는 이합체화체 및/또는 원하는 효과에 따라 조정될 수 있다. 이합체화체는 단일 분량 또는 복수 분량으로 투여될 수 있다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 경구 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화

체는 흡입 루트를 통해 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 비내 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 국부 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 종양내 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 종양주위 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 두개내 투여된다. 일부 구체예에서, 이합체화체는 정맥내 투여된다.

[0317] 작용제는 전신 또는 국부화된 루트를 비롯하여, 전통적인 약물의 전달에 적합한 임의의 가용한 전통적인 방법과 루트를 이용하여 숙주에 투여될 수 있다. 일반적으로, 본 발명에 의해 예기된 투여 루트에는 경장, 비경구, 또는 흡입 루트가 포함되지만 이들에 반드시 한정되지는 않는다.

[0318] 흡입 투여 이외에 비경구 투여 루트에는 국소, 경피, 피하, 근육내, 안와내, 관절내, 척주내, 흉골내, 종양내, 종양주위, 그리고 정맥내 루트, 다시 말하면, 소화관을 통한 투여 이외에 임의의 루트가 포함되지만 이들에 반드시 한정되지는 않는다. 비경구 투여는 이합체화체의 전신 또는 국부 전달을 달성하기 위해 운반될 수 있다. 전신 전달이 요망되는 경우에, 투여는 전형적으로, 제약학적 제조물의 침습성 또는 전신적으로 흡수된 국소 또는 점막 투여를 수반한다.

[0319] 이합체화체는 또한, 경장 투여에 의해 개체에 전달될 수 있다. 경장 투여 루트에는 경구와 직장 (가령, 좌약을 이용) 전달이 포함되지만 이들에 반드시 한정되지는 않는다.

[0320] 치료는 숙주를 괴롭히는 병리학적 장애와 연관된 증상의 최소한 개선을 의미하고, 여기서 개선은 넓은 의미에서, 파라미터, 예를 들면, 치료되는 병리학적 장애, 예를 들면, 암과 연관된 증상의 크기에서 최소한 감소를 지칭하는데 이용된다. 따라서, 치료는 또한, 병리학적 장애, 또는 이와 연관된 최소한 증상이 숙주가 병리학적 장애, 또는 병리학적 장애를 특징짓는 최소한 증상을 더 이상 겪지 않도록, 완전하게 저해되는, 예를 들면, 발생하는 것이 예방되는, 또는 중지되는, 예를 들면, 종결되는 환경을 포함한다.

[0321] 일부 구체예에서, 이합체화체는 예로서, 뇌 동맥 내에 부위에 또는 뇌 조직 내로 직접적으로 주사 및/또는 전달에 의해 투여된다. 이합체화체는 또한, 예로서 직접적인 주사에 의해, 약물 전달 장치, 예를 들면, 삼투성 펌프 또는 느린 방출 입자의 이식에 의해, 표적 부위에 바이오리스틱 전달에 의해, 기타 등등에 의해 표적 부위에 직접적으로 투여될 수 있다.

[0322] 복합 요법

[0323] 일부 구체예에서, 이합체화체는 표준 암 요법에 보조 요법으로서 투여된다. 표준 암 요법은 수술 (가령, 암성 조직의 외과적 제거), 방사선 요법, 골수 이식술, 화학요법 치료, 항체 치료, 생물학적 반응 조절제 치료, 그리고 이들의 일정한 조합을 포함한다.

[0324] 방사선 요법에는 외부적으로 적용된 공급원, 예를 들면, 빔으로부터, 또는 작은 방사선원의 이식에 의해 전달되는 x-선 또는 감마선이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0325] 암 치료에서 이용에 적합한 항체에는 나신 항체, 예를 들면, 트라스투주맙 (헤르셉틴), 베바시주맙 (Avastin™), 세툭시맙 (Erbitux™), 파니투무맙 (Vectibix™), 이필리무맙 (Yervoy™), 리툭시맙 (리툭산), 알렘투주맙 (Lemtrada™), 오파투무맙 (Arzerra™), 오르고보맙 (OvaRex™), 람브롤리주맙 (MK-3475), 페르투주맙 (Perjeta™), 라니비주맙 (Lucentis™) 등, 그리고 접합된 항체, 예를 들면, 젬투주맙 오조가마이신 (Mylortarg™), 브렌툭시맙 베도틴 (Adcetris™), ^{90}Y-표지화된 이브리투모맙 티욱세탄 (Zevalin™), ^{131}I-표지화된 토시투모맙 (Bexxar™) 등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 암 치료에서 이용에 적합한 항체에는 종양-연관된 항원에 대하여 조성된 항체가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 이런 항원에는 CD20, CD30, CD33, CD52, EpCAM, CEA, gpA33, 점액소, TAG-72, CAIX, PSMA, 엽산염-결합 단백질, 강글리오시드 (가령, GD2, GD3, GM2 등), Le^{y}, VEGF, VEGFR, 인테그린 알파-V-베타-3, 인테그린 알파-5-베타-1, EGFR, ERBB2, ERBB3, MET, IGF1R, EPHA3, TRAILR1, TRAILR2, RANK, FAP, 테나신 등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0326] 본 발명의 방법과 관련하여 이용에 적합한 생물학적 반응 조절제에는 (1) 티로신 키나아제 (RTK) 활성의 저해제; (2) 세린/트레오닌 키나아제 활성의 저해제; (3) 종양-연관된 항원 길항제, 예를 들면, 종양 항원에 특이적으로 결합하는 항체; (4) 아폽토시스 수용체 효현제; (5) 인터류킨-2; (6) 인터페론-α.; (7) 인터페론-γ; (8) 집락 자극 인자; (9) 혈관형성의 저해제; 그리고 (10) 종양 괴사 인자의 길항제가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0327] 화학요법제는 암 세포의 증식을 감소시키는 비펩티드성 (즉, 비단백질성) 화합물이고, 그리고 세포독성제와 정균제를 포괄한다. 화학요법제의 무제한적 실례는 알킬화제, 니트로소우레아, 대사길항물질, 항종양 항생제, 식

물 (빈카) 알칼로이드, 그리고 스테로이드 호르몬을 포함한다.

[0328] 세포 증식을 감소시키는 작용을 하는 작용제는 당분야에서 공지되고 폭넓게 이용된다. 이런 작용제는 알킬화제, 예를 들면, 질소 머스타드, 니트로소우레아, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술폰산염, 그리고 메클로르에타민, 시크로포스파미드 (Cytoxan™), 멜팔란 (L-사르콜리신), 카르무스틴 (BCNU), 로무스틴 (CCNU), 세무스틴 (메틸-CCNU), 스트렙토조신, 클로로조토신, 우라실 머스타드, 클로르메틴, 이포스파미드, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포라민, 부설판, 다카르바진, 그리고 테모졸로미드가 포함되지만 이들에 한정되지 않는 트리아젠을 포함한다.

[0329] 대사길항물질 작용제는 시타라빈 (CYTOSAR-U), 시토신 아라비노시드, 플루오로우라실 (5-FU), 플록수리딘 (FudR), 6-티오구아닌, 6-메르캅토푸린 (6-MP), 펜토스타틴, 5-플루오로우라실 (5-FU), 메토트렉사트, 10-프로파르길-5,8-디데아자폴레이트 (PDDF, CB3717), 5,8-디데아자테트라히드로폴산 (DDATHF), 류코보린, 플루다라빈 인산염, 펜토스타틴, 그리고 젬시타빈이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 폴산 유사체, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체, 그리고 아데노신탈아미노효소 저해제를 포함한다.

[0330] 적합한 자연 산물과 이들의 유도체, (가령, 빈카 알칼로이드, 항종양 항생제, 효소, 림포카인, 그리고 에피포도필로톡신)에는 Ara-C, 파클리탁셀 (Taxol®), 도세탁셀 (Taxotere®), 데옥시코포르마이신, 미토마이신-C, L-아스파라기나아제, 아자티오프린; 브레퀴나르; 알칼로이드, 예를 들면, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 비노렐빈, 빈데신 등; 포도필로톡신, 예를 들면, 에토포시드, 테니포시드 등; 항생제, 예를 들면, 안트라사이클린, 다우노루비신 염산염 (다우노마이신, 루비도마이신, 세루비딘), 이다루비신, 독소루비신, 에피루비신 및 모르폴리노 유도체 등; 페녹시존 비스시클로펩티드, 예를 들면, 닥티노마이신; 염기성 당펩티드, 예를 들면, 블레오마이신; 안트라퀴논 글리코시드, 예를 들면, 플리카마이신 (미트라마이신); 안트라센디온, 예를 들면, 미톡산트론; 아지리노피롤로 인돌디온, 예를 들면, 미토마이신; 대환식 면역억제제, 예를 들면, 시클로스포린, FK-506 (타크롤리무스, 프로그라프), 라파마이신 등; 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0331] 다른 항증식성 세포독성제는 나벨벤, CPT-11, 아나스트라졸, 레트라졸, 카페시타빈, 렐록사핀, 시크로포스파미드, 이포사미드, 그리고 드롤록사핀이다.

[0332] 항증식성 활성을 갖는 미세관 영향을 주는 작용제 역시 이용에 적합하고 여기에는 알로콜히친 (NSC 406042), 할리콘드린 B (NSC 609395), 콜히친 (NSC 757), 콜히친 유도체 (가령, NSC 33410), 돌스타틴 10 (NSC 376128), 메이탄신 (NSC 153858), 리족신 (NSC 332598), 파클리탁셀 (Taxol®), 탁솔 유도체, 도세탁셀 (Taxotere®), 티오콜히친 (NSC 361792), 트리틸 시스테린, 빈블라스틴 황산염, 빈크리스틴 황산염, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 디스코데르몰리드가 포함되지만 이들에 한정되지 않는 자연과 합성 에포틸론; 에스트라무스틴, 노코다졸, 기타 등등이 포함되지만 이들에 한정되지 않는다.

[0333] 이용에 적합한 호르몬 조절인자와 스테로이드 (합성 유사체 포함)에는 부신피질스테로이드, 예를 들면, 프레드니손, 덱사메타손 등; 에스트로겐과 프레게스틴, 예를 들면, 히드록시프로게스테론 카프론산염, 메드록시프로게스테론 아세트산염, 메게스트롤 아세트산염, 에스트라디올, 클로미펜, 타목시펜 등; 그리고 부신 피질 억제제, 예를 들면, 아미노글루테티미드; 17α-에티닐에스트라디올; 디에틸스틸베스트롤, 테스토스테론, 플루오시메스테론, 드로모스타놀론 프로피온산염, 테스톨락톤, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론 아세트산염, 류프롤라이드, 플루타미드 (Drogenil), 토레미펜 (Fareston), 그리고 Zoladex®가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 에스트로겐은 증식과 분화를 자극하고, 이런 이유로 에스트로겐 수용체에 결합하는 화합물이 이러한 활성을 차단하는데 이용된다. 코르티코스테로이드는 T 세포 증식을 저해할 수 있다.

[0334] 다른 화학요법제는 금속 복합체, 예를 들면, 시스플라틴 (시스-DDP), 카르보플라틴 등; 요소, 예를 들면, 히드록시우레아; 그리고 히드라진, 예를 들면, N-메틸히드라진; 에피도필로톡신; 국소이성화효소 저해제; 프로카르바진; 미톡산트론; 류코보린; 테가푸르 등을 포함한다. 관심되는 다른 항증식성 작용제는 면역억제제, 예를 들면, 마이코페놀산, 탈리도미드, 데옥시스페르구알린, 아자스포린, 레플루노미드, 미조리빈, 아자스피레인 (SKF 105685); Iressa® (ZD 1839, 4-(3-클로로-4-플루오로페닐아미노)-7-메톡시-6-(3-(4-모르폴리닐)프로폭시)퀴나졸린) 등을 포함한다.

[0335] "탁산"은 파클리탁셀뿐만 아니라 임의의 활성 탁산 유도체 또는 전구약물을 포함한다. "파클리탁셀" (이것은 본원에서, 유사체, 제제, 그리고 유도체, 예를 들면, 예로서, 도세탁셀, TAXOL™, TAXOTERE™ (도세탁셀의 제제), 파클리탁셀의 10-데스아세틸 유사체 및 파클리탁셀의 3'N-데스벤조일-3'N-t-부톡시카르보닐 유사체를 포함하는

것으로 이해되어야 하다)은 당업자에게 공지된 기술을 활용하여 쉽게 제조되거나 (또한, WO 94/07882, WO 94/07881, WO 94/07880, WO 94/07876, WO 93/23555, WO 93/10076; U.S. 특허 번호 5,294,637; 5,283,253; 5,279,949; 5,274,137; 5,202,448; 5,200,534; 5,229,529; 그리고 EP 590,267을 참조한다), 또는 예로서, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. (탁수스 브레비폴리아 (*Taxus brevifolia*)로부터 T7402; 또는 탁수스 야나넨시스 (*Taxus yannanensis*)로부터 T-1912)를 비롯한 다양한 상업적인 공급원으로부터 획득될 수 있다.

[0336] 파클리탁셀은 파클리탁셀의 통상적인 화학적으로 가용한 형태뿐만 아니라 유사체와 유도체 (가령, Taxotere™ 도세탁셀, 전술한 바와 같음) 및 파클리탁셀 접합체 (가령, 파클리탁셀-PEG, 파클리탁셀-덱스트란, 또는 파클리탁셀-자일로오스)를 지칭하는 것으로 이해되어야 하다.

[0337] 용어 "탁산" 내에는 친수성 유도체, 그리고 소수성 유도체 둘 모두를 비롯한 다양한 공지된 유도체 역시 포함된다. 탁산 유도체에는 국제 특허 출원 번호 WO 99/18113에서 설명된 갈락토오스와 만노오스 유도체; WO 99/14209에서 설명된 피페라지노와 다른 유도체; WO 99/09021, WO 98/22451, 그리고 U.S. 특허 번호 5,869,680에서 설명된 탁산 유도체; WO 98/28288에서 설명된 6-티오 유도체; U.S. 특허 번호 5,821,263에서 설명된 술페나미드 유도체; 그리고 U.S. 특허 번호 5,415,869에서 설명된 탁솔 유도체가 포함되지만 이들에 한정되지 않는다. 이것은 WO 98/58927; WO 98/13059; 그리고 U.S. 특허 번호 5,824,701에서 설명된 것들이 포함되지만 이들에 한정되지 않는 파클리탁셀의 전구약물을 더욱 포함한다.

[0338] **치료에 적합한 개체**

[0339] 다양한 개체가 암을 치료하는 주제 방법으로 치료에 적합하다. 적합한 개체는 임의의 개체, 예를 들면, 암을 앓거나, 암으로 진단되었거나, 암이 발병할 위험에 처해있거나, 암을 앓았고 암의 재발 위험에 처해있거나, 암에 대해 이합체화체 이외에 작용제로 치료되었고 이런 치료에 반응하는데 실패하였거나, 또는 암에 대해 이합체화체 이외에 작용제로 치료되었지만 이런 치료에 초기 반응 후에 재발한 인간 또는 비-인간 동물을 포함한다.

[0340] 주제 면역조정성 방법으로 치료에 적합한 개체는 자가면역 장애를 앓는 개체; 장기 또는 조직 이식조직 수용자 등인 개체; 면역손상된 개체; 그리고 병원체로 감염된 개체를 포함한다.

[0342] ***실시예**

[0343] 다음 실시예는 당업자에게 본 발명을 만들고 이용하는 방법에 관한 완전한 개시와 설명을 제공하기 위해 제안되고, 그리고 본 발명자들이 그들의 발명으로서 간주하는 것의 범위를 한정하는 것으로 의도되지 않고, 또한 이들은 아래 실험이 수행된 모든 또는 유일한 실험이라는 것을 나타내는 것으로 의도되지 않는다. 이용된 숫자 (가령, 양, 온도 등)에 대하여 정확도를 담보하기 위한 노력이 이루어졌지만, 일부 실험 오차와 편차가 고려되어야 한다. 달리 지시되지 않으면, 분율은 중량에 의한 분율이고, 분자량은 중량 평균 분자량이고, 온도는 섭씨 온도이고, 그리고 압력은 대기압 또는 이에 가깝다. 표준 약어가 이용될 수 있다, 예를 들면, bp, 염기쌍(들); kb, 킬로베이스(들); pl, 피코리터(들); s 또는 sec, 초(들); min, 분(들); h 또는 hr, 시간(들); aa, 아미노산(들); kb, 킬로베이스(들); bp, 염기쌍(들); nt, 뉴클레오티드(들); i.m., 근육내; i.p., 복막내; s.c., 피하; i.v., 정맥내; 기타 등등.

[0344] 실시예 1: CAR의 산출

[0345] **재료와 방법**

[0346] 항인간 CD19 scFv는 설계 최적화 과정을 통해 CAR에서 항원 인식 도메인으로서 선별되었다. 도면 18A와 18B는 2개의 수치적으로 확인된 폴리펩티드로 구성되는 각 CAR의 분자 구조를 요약한다. 모든 막-고정된 폴리펩티드는 이황화 결합 동종이합체이다. 막-고정된 폴리펩티드는 그래픽적 단순함을 위해 단위체로서 묘사된다.

[0347] CAR 구조체의 산출

[0348] 항인간 CD19 scFv를 인코딩하는 서열은 구조체로부터 클로닝되었다. 인간 4-1BB 동시자극 및 CD3 제타 ITAM 신호전달 사슬은 Open Biosystems에 의해 공급된 cDNA로부터 클로닝되었다. FKBP-와 FRB-인코딩 서열은 Addgene에 의해 공급된 플라스미드로부터 클로닝되었다.

[0349] 표준 분자 클로닝 기술 (중합효소 연쇄 반응 (PCR), 제한 절단, 결찰 등)이 렌티바이러스 발현 플라스미드를 산출하는데 적용되었다.

[0350] 작동체와 표적 세포 배양 조건

[0351] 인간 일차 CD8+ T 세포는 University Institutional Review Board에 의해 승인된 RosetteSep 인간 CD8+ T 세포 농축 칵테일 (STEMCELL Technologies #15063)을 이용한 음성 선별에 의해 성분채집술 (Blood Centers of the Pacific, San Francisco, CA로부터 Trima 잔류물) 후에 익명 공여자의 혈액으로부터 단리되었다. 세포는 X-VIVO15 (Lonza #04-418Q), 5% 인간 AB 혈청 (Valley Biomedical Inc., #HP1022), 10mM N-아세틸 L-시스테인 (Sigma-Aldrich #A9165) 및 100 IU/mL 재조합 인간 IL-2 (NCI/BRB Preclinical Repository)로 구성되는 인간 T 세포 배지에서 배양되었다. NFAT 활성화 시에 녹색 형광 단백질 (GFP)을 발현하는 Jurkat 세포주는 10% 소 태아 혈청 (FBS), 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI-1640 배지에서 유지되었다. U. Penn으로부터 K562 표적 세포는 10% FBS로 보충된 IMDM에서 배양되었다.

[0352] 렌티바이러스로 작동체와 표적 세포 가공

[0353] 범친화성 VSV-G 가성유형 렌티바이러스는 Lipofectamine LTX (Life Technologies #15338)를 이용하여, pHR'SIN:CSW 도입유전자 발현 벡터, 바이러스 포장 플라스미드 pCMVdR8.91과 pMD2.G로 동시형질감염된 Lenti-X 293T 세포 (Clontech Laboratories #632180)로부터 생산되었다. 감염 배지 상층액은 형질감염 후 48 시간에 수집되고 형질도입을 위해 직접적으로 이용되었다.

[0354] 바이러스 형질도입에 앞서 24 시에, 일차 인간 T 세포는 1:3 세포:비드 비율에서 인간 T-활성체 CD3/CD28 Dynabeads (Life technologies #111-31D)를 이용하여 활성화되었다. Jurkat와 K562 세포는 배양액이 형질도입의 시점에서 로그 기에 있도록 담보하기 위해 1~2 일 사전에 분할되었다. 형질도입된 Jurkat와 K562 세포는 실험이 수행되기 전 최소한 7 일 동안 배양되었다. 일차 T 세포는 세포가 안정 상태로 복귀할 때까지 약 2 주 동안 인간 T 세포 배지에서 ~10^6/mL에서 유지되었다. 렌티바이러스 구조체에서 인코딩된 CAR의 발현 수준은 유세포분석기를 이용하여 형광단-접합된 항체 또는 형광 리포터 단백질을 검출함으로써 정량되었다.

[0355] IL-2 생산과 NFAT 활성의 정량

[0356] CAR을 발현하는 Jurkat CD4+ T 세포는 1:2 작동체:표적 비율에서 U. Penn으로부터 동계 또는 비동계 K562 표적 세포와 혼합되었다. 라파로그 A/C 이형이합체화체 (Clontech Laboratories #635055)는 배지에서 계열 희석되고 반응 혼합물에 첨가되었다. 20~24 시간의 배양 후, 배지 상층액은 수집되고 BD OptEIA 인간 IL-2 ELISA 세트 (BD Biosciences #555190)로 분석되었다. CAR 활성에 대한 별개의 지표로서 Jurkat 세포에서 NFAT-의존성 GFP 리포터 발현을 정량하기 위해 유세포분석법이 수행되었다.

[0357] 유세포분석법-기초된 전향된 세포독성 검정

[0358] 동계와 비동계 K562 표적 세포는 혼합물 내에 양쪽 세포 유형이 유세포분석법에 의해 동시에 정량될 수 있도록 하기 위해, 상이한 형광 단백질을 발현하도록 가공되었다. 표적 세포 유형은 1:1 비율에서 혼합되고 5:2 작동체:표적 비율에서 인간 일차 CD8+ 작동체 T 세포와 공동배양되었다. 100 IU/mL 인간 IL-2 및 변하는 양의 라파로그 (Clontech Laboratories #635055)가 반응 혼합물에 첨가되었다. 24 시간의 배양 후, 표본은 400g에서 5 분 동안 원심분리되었다. 펠렛화된 세포는 세척 완충액 (PBS + 0.5% BSA + 0.1% 아지드화나트륨)에서 재현탁되고, 그리고 유세포분석에 앞서 동등한 부피의 BD Cytofix (BD cat #554655)로 고정되었다. 생존 동계 표적 세포 대 비동계 표적 세포의 비율은 작동체 세포의 전향된 세포독성 활성을 열거하기 위해 각 표본에 대해 계산되었다.

[0359] **결과**

[0360] 다양한 CAR 구조체에 의해 유도된 IL-2 생산이 사정되었다. 데이터는 도면 12에서 제공된다.

[0361] 도면 12. 5개의 온-스위치 CAR 변이체에 의해 촉발된 IL-2 생산. 작동체 = CAR로 가공된 인간 CD4+ Jurkat T 세포. 표적 = 동계 CD19 항원을 갖거나 또는 갖지 않는 K562 세포주. 작동체 세포에 의한 분비된 IL-2의 양은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 정량되었다.

[0362] 도면 13. 도면 12에서 설명된 것과 동일한 실험에서 대조 Jurkat 라인에 의한 IL-2 생산. 구조체 "125"는 임상 시험에서 현재 이용된 전통적인 대조를 인코딩한다.

[0363] 도면 14. 도면 12에서 설명된 것들과 동일한 조건 하에 별개의 실험에서 "122 + 206" 및 "197 + 206" 사이에 비교.

[0364] 도면 15는 온-스위치 CAR "197+206"에 의해 부여된 약리학적으로 적정가능한 세포독성을 증명한다. 소형 분자 라파로그의 존재에서, CAR은 동계 표적 세포를 향하여 전향된 세포독성을 효과적으로 매개한다. 높은 용량의 라

파로그에서, 이러한 온-스위치 CAR은 "125" 전통적인 CAR만큼 강하게 신호할 수 있다. 작동체 = CAR 또는 대조 벡터로 가공된 인간 일차 CD8+ T 세포. 표적 = 동계 인간 CD19 항원 또는 비동계 인간 메소텔린 항원을 발현하는 K562 세포주의 형광 유도체.

[0365] 도면 16은 세포내 신호전달 도메인으로서 T 세포 수용체 경로로부터 세포질 티로신 키나아제 Zap70으로 작제된 CAR에 대한 데이터를 묘사한다.

[0366] 도면 16은 온-스위치 CAR의 여러 변이체로 가공된 Jurkat 세포로부터 데이터를 보여준다. 가공된 Jurkat 세포는 동계 항원 (CD19)을 갖거나 또는 갖지 않는 K562 표적 세포 및 지정된 농도의 라파로그와 공동배양되었다. CAR 성분으로서, Zap70 키나아제 ("199"을 특징으로 하는 왼쪽으로부터 첫 번째와 두 번째 구조)는 NFAT 기능을 활성화하는데 있어서 ITAM ("168"을 특징으로 하는 왼쪽으로부터 세 번째 구조)만큼 효과적이었다. 4-1BB 신호전달 도메인의 부가는 수용체의 항원 인식 부분의 표면 발현을 증가시키고 "197+199"에 의한 더욱 강한 신호전달을 야기하였다. 비신호전달 CAR (제일 오른쪽)은 음성 대조로서 포함되었다.

[0367] 실시예 2: 메소텔린을 표적으로 하는 CAR

[0368] **재료와 방법**

[0369] 다수의 키메라 항원 수용체 구조체가 만들어지고 검사되었다. 여기서 도시된 구조체는 3개의 상이한 항인간 메소텔린 scFv를 항원 인식 도메인으로서 인코딩한다. 도면 19A, 19B, 그리고 19C는 각 항인간 메소텔린 CAR의 분자 구조를 요약하는데, 각 CAR은 2개의 폴리펩티드를 포함한다. 각 항인간 메소텔린 CAR의 세포간 부분은 2개의 4-1BB 동시자극성 도메인, FKBP와 FRB 이합체화체-결합 쌍, 그리고 ITAM 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 여기서 도시된 3개의 상이한 항원 인식 도메인은 항-메소텔린 HN1 scFv, SS1 scFv, 그리고 m912 scFv이다. 모든 막-고정된 폴리펩티드는 이황화 결합 동종이합체이다.

[0370] CAR 구조체의 산출

[0371] 항-메소텔린을 인코딩하는 서열은 구조체로부터 클로닝되거나 또는 PCR에 의한 유전자 어셈블리를 거쳐 합성되었다. 인간 4-1BB 동시자극 및 CD3 제타 ITAM 신호전달 사슬은 Open Biosystems에 의해 공급된 cDNA로부터 클로닝되었다. HN1 scFv-, SS1 scFv-, 그리고 m912 scFv-인코딩 서열은 PCR에 의해 합성되고, 그리고 일부 경우에, 코돈 최적화되었다. FKBP-와 FRB-인코딩 서열은 Addgene 플라스미드로부터 클로닝되었다.

[0372] 표준 분자 클로닝 기술 (중합효소 연쇄 반응 (PCR), 제한 절단, 결찰 등)이 렌티바이러스 발현 플라스미드를 산출하는데 적용되었다.

[0373] 작동체와 표적 세포 배양 조건

[0374] NFAT 활성화 시에 GFP를 발현하는 Jurkat 세포주는 10% FBS, 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI-1640 배지에서 유지되었다. K562 표적 세포는 10% 소 태아 혈청 (FBS)으로 보충된 IMDM에서 배양되었다.

[0375] 렌티바이러스로 작동체와 표적 세포 가공

[0376] 범친화성 VSV-G 가성유형 렌티바이러스는 Lipofectamine LTX (Life Technologies #15338)를 이용하여, pHR'SIN:CSW 도입유전자 발현 벡터, 바이러스 포장 플라스미드 pCMVdR8.91과 pMD2.G로 동시형질감염된 Lenti-X 293T 세포 (Clontech Laboratories #632180)로부터 생산되었다. 감염 배지 상층액은 형질감염 후 48 시간에 수집되고 형질도입을 위해 직접적으로 이용되었다.

[0377] Jurkat와 K562 세포는 배양액이 형질도입의 시점에서 로그 기에 있도록 담보하기 위해 1~2 일 사전에 분할되었다. 형질도입된 Jurkat와 K562 세포는 실험이 수행되기 전 최소한 7 일 동안 배양되었다. 렌티바이러스 구조체에서 인코딩된 CAR의 발현 수준은 유세포분석기를 이용하여 형광단-접합된 항체 또는 형광 리포터 단백질을 검출함으로써 정량되었다.

[0378] IL-2 생산의 정량

[0379] CAR를 발현하는 Jurkat CD4+ T 세포는 1:2 작동체:표적 비율에서 동계 또는 비동계 K562 표적 세포와 혼합되었다. 라파로그 A/C 이형이합체화체 (Clontech Laboratories #635055)는 배지에서 계열 희석되고 반응 혼합물에 첨가되었다. 20~24 시간의 배양 후, 배지 상층액은 수집되고 BD OptEIA 인간 IL-2 ELISA 세트 (BD Biosciences #555190)로 분석되었다.

[0380] **결과**

[0381] 항-메소텔린 CAR 구조체에 의해 유도된 IL-2 생산이 사정되었다. 데이터는 도면 19D-F에서 제공된다.

[0382] 도면 19. HN1 scFv (도면 19D), SS1 scFv (도면 19E), 그리고 m912 scFv (도면 19F) 온-스위치 CAR 변이체에 의해 촉발된 IL-2 생산. 전통적인 CAR (도면 19G, 구조체 #358)에 의한 IL-2 생산이 계측되고 온-스위치 CAR (도면 19D)에 비교를 위해 포함되었다. 작동체 = CAR로 가공된 인간 CD4+ Jurkat T 세포. 표적 = 동계 메소텔린 항원을 갖거나 또는 갖지 않는 K562 세포주. 작동체 세포에 의한 분비된 IL-2의 양은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 정량되었다.

[0383] 실시예 3: 온-스위치 CAR의 이합체화체로서 지베렐린산

[0384] **재료와 방법**

[0385] 도면 20A는 주제 지베렐린산 이합체화체 CAR의 분자 구조를 요약한다. 항원 결합 부분은 항인간 CD19 scFv를 포함한다. 세포내 부분은 2개의 4-1BB 동시자극성 도메인, GID1과 GAI 이합체화체-결합 쌍, 그리고 ITAM 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 모든 막-고정된 폴리펩티드는 이황화 결합 동종이합체이다.

[0386] CAR 구조체의 산출

[0387] 지베렐린산 이합체화체 CAR를 인코딩하는 서열은 구조체로부터 클로닝되었다. 항-CD19 scFv는 플라스미드로부터 클로닝되었다. 인간 4-1BB 동시자극 및 CD3 제타 ITAM 신호전달 사슬은 Open Biosystems에 의해 공급된 cDNA로부터 클로닝되었다. GID1-과 GAI-인코딩 서열은 Addgene 플라스미드로부터 클로닝되었다. 표준 분자 클로닝 기술 (중합효소 연쇄 반응 (PCR), 제한 절단, 결찰 등)이 렌티바이러스 발현 플라스미드를 산출하는데 적용되었다.

[0388] 작동체와 표적 세포 배양 조건

[0389] NFAT 활성화 시에 GFP를 발현하는 Jurkat 세포주는 10% FBS, 페니실린 및 스트렙토마이신으로 보충된 RPMI-1640 배지에서 유지되었다. K562 표적 세포는 10% 소 태아 혈청 (FBS)으로 보충된 IMDM에서 배양되었다.

[0390] 렌티바이러스로 작동체와 표적 세포 가공

[0391] 범친화성 VSV-G 가성유형 렌티바이러스는 Lipofectamine LTX (Life Technologies #15338)를 이용하여, pHR'SIN:CSW 도입유전자 발현 벡터, 바이러스 포장 플라스미드 pCMVdR8.91과 pMD2.G로 동시형질감염된 Lenti-X 293T 세포 (Clontech Laboratories #632180)로부터 생산되었다. 감염 배지 상층액은 형질감염 후 48 시간에 수집되고 형질도입을 위해 직접적으로 이용되었다.

[0392] Jurkat와 K562 세포는 배양액이 형질도입의 시점에서 로그 기에 있도록 담보하기 위해 1~2 일 사전에 분할되었다. 형질도입된 Jurkat와 K562 세포는 실험이 수행되기 전 최소한 7 일 동안 배양되었다. 렌티바이러스 구조체에서 인코딩된 CAR의 발현 수준은 유세포분석기를 이용하여 형광단-접합된 항체 또는 형광 리포터 단백질을 검출함으로써 정량되었다.

[0393] IL-2 생산의 정량

[0394] CAR를 발현하는 Jurkat CD4+ T 세포는 1:2 작동체:표적 비율에서 동계 또는 비동계 K562 표적 세포와 혼합되었다. 에탄올 (Toronto Research Chemicals #G377500)에서 전용해된 지베렐린산-3 아세톡시메틸 에스테르 (지베렐린산-3 AM)는 성장 배지에서 희석되고 반응 혼합물에 첨가되었다. 지베렐린산 (지베렐린산-3 AM)은 10 mM에서 이용되었다. 20~24 시간의 배양 후, 배지 상층액은 수집되고 BD OptEIA 인간 IL-2 ELISA 세트 (BD Biosciences #555190)로 분석되었다.

[0395] **결과**

[0396] 지베렐린산 이합체화체 CAR 구조체에 의해 유도된 IL-2 생산이 사정되었다. 데이터는 도면 20에서 제공된다.

[0397] 도면 20. 지베렐린산 이합체화체 CAR 변이체 (도면 20B)에 의해 촉발된 IL-2 생산. 전통적인 CAR (도면 20C, 구조체 "125")에 의한 IL-2 생산이 계측되고 온-스위치 CAR에 비교를 위해 포함되었다. 작동체 = CAR로 가공된 인간 CD4+ Jurkat T 세포. 표적 = 동계 CD19 항원을 갖거나 또는 갖지 않는 K562 세포주. 작동체 세포에 의한 분비된 IL-2의 양은 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 정량되었다.

[0398] 실시예 4: 다양한 동시자극성 도메인을 갖는 온-스위치 CAR

[0399] **재료와 방법**

[0400] 다수의 키메라 항원 수용체 구조체는 다양한 다른 동시자극성 도메인이 4-1BB 동시자극성 도메인에 대해 교환된 점을 제외하고, 본질적으로 실시예 1에 대해 설명된 바와 같이 만들어졌다. 도면 21A와 21B는 여기에서 설명된 CAR의 분자 구조를 요약한다.

[0401] CAR 구조체의 산출

[0402] 항인간 CD19 scFv를 인코딩하는 서열은 플라스미드로부터 클로닝되었다. 인간 CD3 제타 ITAM 신호전달 사슬 및 인간 동시자극성 도메인 CD28과 OX-40 인코딩 서열은 Open Biosystems에 의해 공급된 cDNA로부터 클로닝되었다. FKBP-와 FRB-인코딩 서열은 Addgene으로부터 플라스미드로부터 클로닝되었다.

[0403] 표준 분자 클로닝 기술 (중합효소 연쇄 반응 (PCR), 제한 절단, 결찰 등)이 렌티바이러스 발현 플라스미드를 산출하는데 적용되었다.

[0404] CAR 구조체의 시험

[0405] 작동체와 표적 세포는 설명된 온-스위치 CAR CD28과 OX-40 동시자극성 도메인 내포 구조체 (도면 21A-B, 각각 구조체 "365+367"과 "399+400") 및 상응하는 전통적인 CAR 대조 (도면 21C-D, 각각 구조체 "366"과 "398")를 이용하여, 실시예 1에 따라 배양되고 형질감염된다. IL-2 생산, NFAT 활성 검정, 그리고 유세포분석법-기초된 검정은 또한, 실시예 1에 대해 설명된 바와 같은 CD28 동시자극성 도메인 내포 구조체와 OX-40 동시자극성 도메인 내포 구조체로 수행될 수 있다. 대안으로, 온-스위치 CAR CD28과 OX-40 동시자극성 도메인 내포 구조체의 아단위는 실시예 1로부터 구조체의 아단위와 짝짓기될 수 있다 (가령, "197+367", " 365+206," "197+400", "399+206" 등).

[0406] 실시예 5: 온-스위치 CAR의 생체내 사정

[0407] 온-스위치 CAR은 표적 종양 세포의 생체내 사멸을 매개하는 능력에 대해 사정될 수 있다. 온-스위치 CAR을 발현하는 T 세포의 주사에 의해 유도된 생체내 종양 세포 사멸이 사정된다. 동계 항원을 발현하는 것으로 시험관내에서 확증되고 상응하는 CAR을 발현하는 $CD8^+$ T 세포에 의해 사멸될 수 있는 종양 세포주가 이용된다. 생체내에서 종양 부담을 정량하는 생물발광 영상을 할 수 있게 하는 개똥벌레 또는 레닐라 루시페라아제를 발현하도록 가공된 종양 세포가 이용될 수 있다. 종양 세포는 피하 종양 모델의 경우에 피하로 또는 전신 종양 모델의 경우에 정맥내로, 면역손상된 생쥐 (가령, 6~10 주령 암컷 NOD *scid* 감마 (NSG) 생쥐) 내로 주사된다. 종양 이식의 방법 및 종양 세포 대 이식물의 최적 숫자는 이용된 종양 세포주에 최적 조건에 기초될 수 있다. 종양 부담은 생물발광 영상에 의해, 그리고 적용가능할 때 캘리퍼스 계측에 의해 주 2회 모니터링될 수 있다. 종양 부담이 검출가능한 직후에, 온-스위치 CAR을 발현하는 0.5~2.5 x 10^7 전체 T 세포 (1:1 $CD4^+$:$CD8^+$)가 치료를 시작하기 위해 생쥐 내로 정맥내 주사된다. 이합체화하는 소형 분자 약물 (가령, 라파로그)은 운반제 제제에 담겨 복막내 투여된다. 온-스위치 CAR-발현 T 세포는 항종양 효과를 증강하기 위해 실험 동안 반복적으로 주사될 수 있다. 인터류킨-2 (IL-2)가 항종양 효과를 증강하기 위해 투여될 수 있다.

[0408] 본 발명이 특정한 구체예에 관하여 설명되긴 했지만, 다양한 변화가 만들어질 수 있고, 그리고 등가물이 발명의 진정한 사상과 범위로부터 벗어남 없이 치환될 수 있는 것으로 당업자에 의해 이해되어야 하다. 이에 더하여, 특정 환경, 물질, 물질 조성물, 과정, 과정 단계 또는 단계들을 본 발명의 목적, 사상과 범위에 적합하게 하는 많은 변형이 만들어질 수 있다. 이런 모든 변형은 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되는 것으로 의도된다.

도면

도면1a

도면 1A와 1B. "항-CD19 scFv – CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 – FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #122

도면 1A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호: 1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호: 2)
Myc 에피토그 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호: 3)
EQKLISEEDL (서열 번호: 4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호: 5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS (서열 번호: 6)

도면1b

도면 1B
인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:
ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호: 7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호: 8)

링커:
TCCCTAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호: 9)
SLGSGSGSGS (서열 번호: 10)

FKBP:
ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호: 11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVG
QRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호: 12)

도면2a

도면 2A와 2B. "FRB - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #123

도면 2A

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (서열 번호: 13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호: 14)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호: 15)
GSGSGSGSSL (서열 번호: 16)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열
번호: 17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호: 18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호: 19)

SRGSGSGSGS (서열 번호: 20)

도면2b

도면 2B

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호: 21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGG
MDELYK (서열 번호: 22)

도면3a

도면 3A와 3B. "항-CD19 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인- 4-1BB & CD3 제타 세포내 사슬"을 포함하는 전통적 CAR을 인코딩하는 구조체 #125

도면 3A

신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호: 1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호: 2)

Myc 에피토프 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호: 3)
EQKLISEEDL (서열 번호: 4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호: 5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS (서열 번호: 6)

도면3b

도면 3B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
(서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SerLeu

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열
번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCtCCTCGC (서열
번호:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:26)

도면4

도면 4

융합 단백질 "FRB - mCherry"를 인코딩하는 구조체 #126

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (서열 번호:13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:14)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)
GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면5a

도면 5A와 5B. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - FRB - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #168

도면 5A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)

GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

도면5b

도면 5B

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열 번호:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)

SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면6a

도면 6A-6C. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - FRB - 4-1BB & CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #169

도면 6A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)

GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

도면6b

도면 6B
인간 4-1BB 세포내 사슬:
AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열 번호:
23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:
AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열 번호:
17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)

SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

도면6c

도면 6C
mCherry:
ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면7a

도면 7A와 7B. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - FRB - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #170

도면 7A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

도면7b

도면 7B

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)

GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면8a

도면 8A와 8B. "항-CD19 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #197

도면 8A

신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)
EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTD
YSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSL
SVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYYNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTD
DTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSS (서열 번호:6)

도면8b

도면 8B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC
(서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SerLeu

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열
번호:23)
KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT 서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVG
QRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면9a

도면 9A-C. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FRB - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #206

도면 9A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

Tctctg

SerLeu

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

도면9b

도면 9B

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)

GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열번호:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEA
YSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT 서열 번호:19)

SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

도면9c

도면 9C

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면10a

도면 10A와 10B. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FRB - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #207

도면 10A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

Tctctg

SerLeu

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열 번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)

GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

도면10b

도면 10B

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMK
SGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)
GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPSDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면11a

도면 11A-C. 융합 단백질 "FRB - Zap70 - mCherry"를 인코딩하는 구조체 #199

도면 11A

FRB:

ATGATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGA
ACGTGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAA
GGAAACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATG
AAATCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAA
AG (서열 번호:13)

MILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYM
KSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:14)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)
GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

도면11b

도면 11B
인간 Zap70:

ATGCCAGACCCCGCGGCGCATCTGCCCTTCTTCTACGGCAGCATCTCGCGTGCCGAGGCCGAGGAGCACC
TGAAGCTGGCGGGCATGGCGGACGGGCTCTTCCTGCTGCGCCAGTGCCTGCGCTCGCTGGGCGGCTATGT
GCTGTCGCTCGTGCACGATGTGCGCTTCCACCACTTTCCCATCGAGCGCCAGCTCAACGGCACCTACGCC
ATTGCCGGCGGCAAAGCGCACTGTGGACCGGCAGAGCTCTGCGAGTTCTACTCGCGCGACCCCGACGGGC
TGCCCTGCAACCTGCGCAAGCCGTGCAACCGGCCGTCGGGCCTCGAGCCGCAGCCGGGGGTCTTCGACTG
CCTGCGAGACGCCATGGTGCGTGACTACGTGCGCCAGACGTGGAAGCTGGAGGGCGAGGCCCTGGAGCAG
GCCATCATCAGCCAGGCCCCGCAAGTGGAGAAGCTCATTGCTACGACGGCCCACGAGCGGATGCCCTGGT
ACCACAGCAGCCTGACGCGTGAGGAGGCCGAGCGCAAACTTTACTCTGGGGCGCAGACCGACGGCAAGTT
CCTGCTGAGGCCGCGGAAGGAGCAGGGCACATACGCCCTGTCCCTCATCTATGGGAAGACGGTGTACCAC
TACCTCATCAGCCAAGACAAGGCGGGCAAGTACTGCATTCCCGAGGGCACCAAGTTTGACACGCTCTGGC
AGCTGGTGGAGTATCTGAAGCTGAAGGCGGACGGGCTCATCTACTGCCTGAAGGAGGCCTGCCCCAACAG
CAGTGCCAGCAACGCCTCAGGGGCTGCTGCTCCCACACTCCCAGCCCACCCATCCACGTTGACTCATCCT
CAGAGACGAATCGACACCCTCAACTCAGATGGATACACCCCTGAGCCAGCACGCATAACGTCCCCAGACA
AACCGCGGCCGATGCCCATGGACACGAGCGTGTATGAGAGCCCCTACAGCGACCCAGAGGAGCTCAAGGA
CAAGAAGCTCTTCCTGAAGCGCGATAACCTCCTCATAGCTGACATTGAACTTGGCTGCGGCAACTTTGGC
TCAGTGCGCCAGGGCGTGTACCGCATGCGCAAGAAGCAGATCGACGTGGCCATCAAGGTGCTGAAGCAGG
GCACGGAGAAGGCAGACACGGAAGAGATGATGCGCGAGGCGCAGATCATGCACCAGCTGGACAACCCCTA
CATCGTGCGGCTCATTGGCGTCTGCCAGGCCGAGGCCCTCATGCTGGTCATGGAGATGGCTGGGGGCGGG
CCGCTGCACAAGTTCCTGGTCGGCAAGAGGGAGGAGATCCCTGTGAGCAATGTGGCCGAGCTGCTGCACC
AGGTGTCCATGGGGATGAAGTACCTGGAGGAGAAGAACTTTGTGCACCGTGACCTGGCGGCCCGCAACGT
CCTGCTGGTTAACCGGCACTACGCCAAGATCAGCGACTTTGGCCTCTCCAAAGCACTGGGTGCCGACGAC
AGCTACTACACTGCCCGCTCAGCAGGGAAGTGGCCGCTCAAGTGGTACGCACCCGAATGCATCAACTTCC
GCAAGTTCTCCAGCCGCAGCGATGTCTGGAGCTATGGGGTCACCATGTGGGAGGCCTTGTCCTACGGCCA
GAAGCCCTACAAGAAGATGAAAGGGCCGGAGGTCATGGCCTTCATCGAGCAGGGCAAGCGGATGGAGTGC
CCACCAGAGTGTCCACCCGAACTGTACGCACTCATGAGTGACTGCTGGATCTACAAGTGGGAGGATCGCC
CCGACTTCCTGACCGTGGAGCAGCGCATGCGAGCCTGTTACTACAGCCTGGCCAGCAAGGTGGAAGGGCC
CCCAGGCAGCACACAGAAGGCTGAGGCTGCCTGTGCC (서열 번호:35)

MPDPAAHLPFFYGSISRAEAEEHLKLAGMADGLFLLRQCLRSLGGYVLSLVHDVRFHHFPIERQLNGTYA
IAGGKAHCGPAELCEFYSRDPDGLPCNLRKPCNRPSGLEPQPGVFDCLRDAMVRDYVRQTWKLEGEALEQ
AIISQAPQVEKLIATTAHERMPWYHSSLTREEAERKLYSGAQTDGKFLLRPRKEQGTYALSLIYGKTVYH
YLISQDKAGKYCIPEGTKFDTLWQLVEYLKLKADGLIYCLKEACPNSSASNASGAAAPTLPAHPSTLTHP
QRRIDTLNSDGYTPEPARITSPDKPRPMPMDTSVYESPYSDPEELKDKKLFLKRDNLLIADIELGCGNFG
SVRQGVYRMRKKQIDVAIKVLKQGTEKADTEEMMREAQIMHQLDNPYIVRLIGVCQAEALMLVMEMAGGG
PLHKFLVGKREEIPVSNVAELLHQVSMGMKYLEEKNFVHRDLAARNVLLVNRHYAKISDFGLSKALGADD
SYYTARSAGKWPLKWYAPECINFRKFSSRSDVWSYGVTMWEALSYGQKPYKKMKGPEVMAFIEQGKRMEC
PPECPPELYALMSDCWIYKWEDRPDFLTVEQRMRACYYSLASKVEGPPGSTQKAEAACA (서열
번호:36)

도면11c

도면 11C

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)

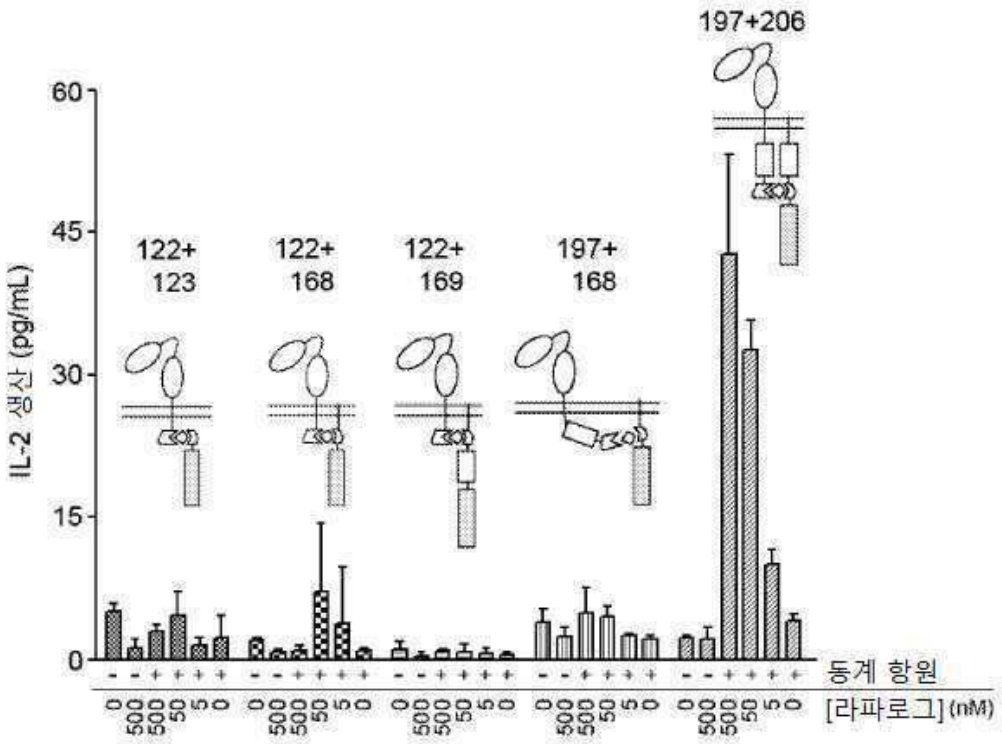
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

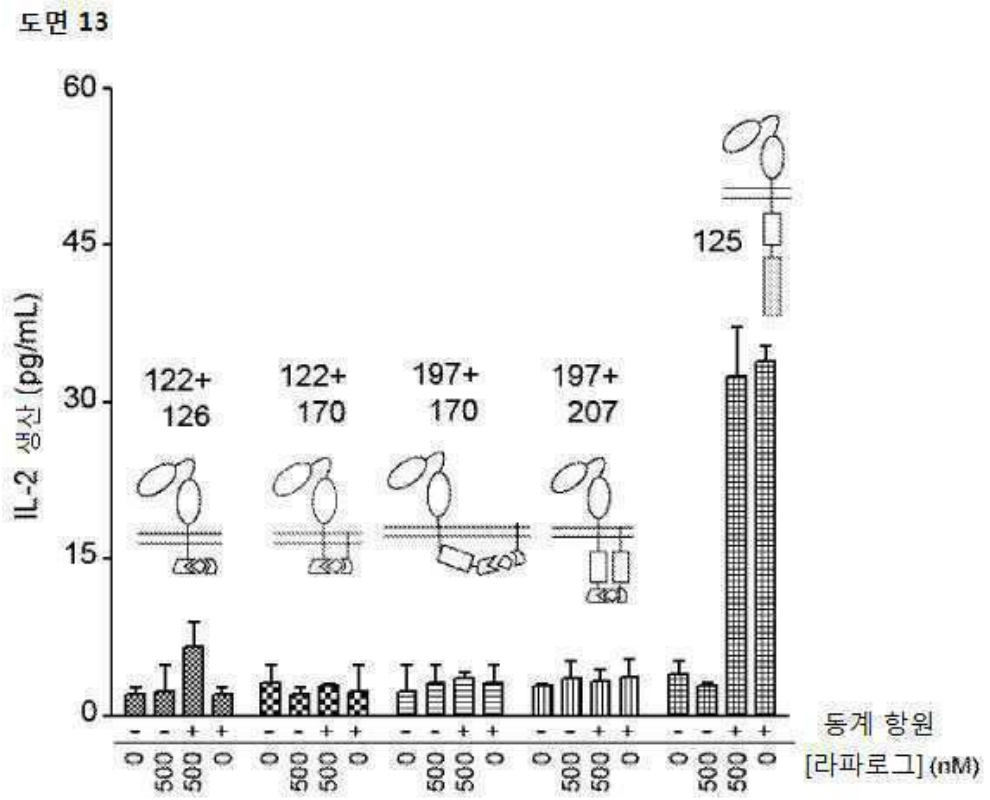
MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLPFAWDILSPQF
MYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQDGEFIYKVKLRGTNFPSDGPV
MQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDAEVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHN
EDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호:22)

도면12

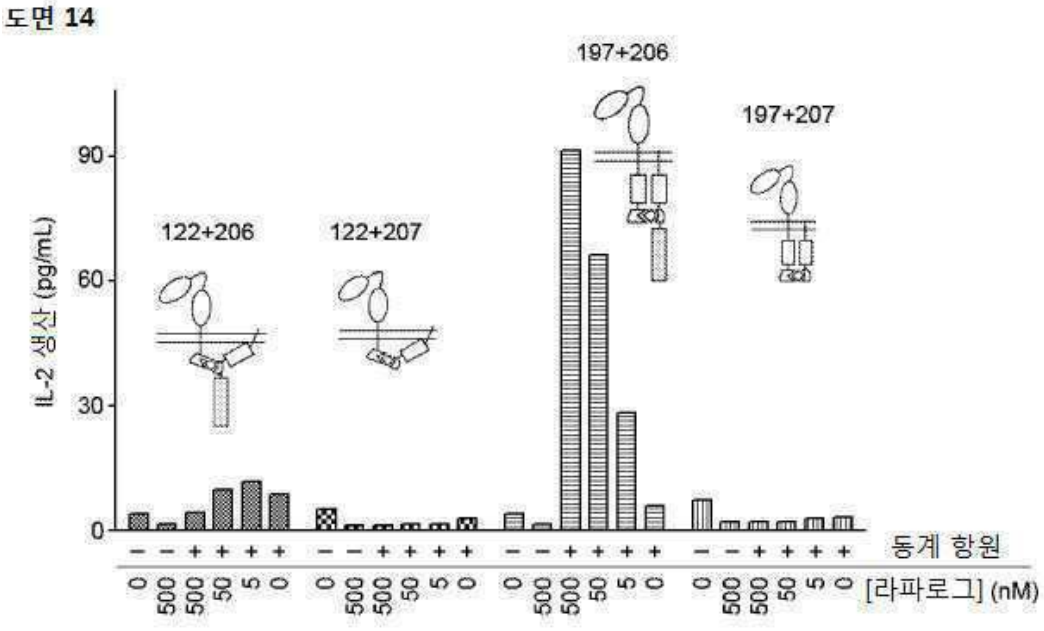


도면 12

도면13

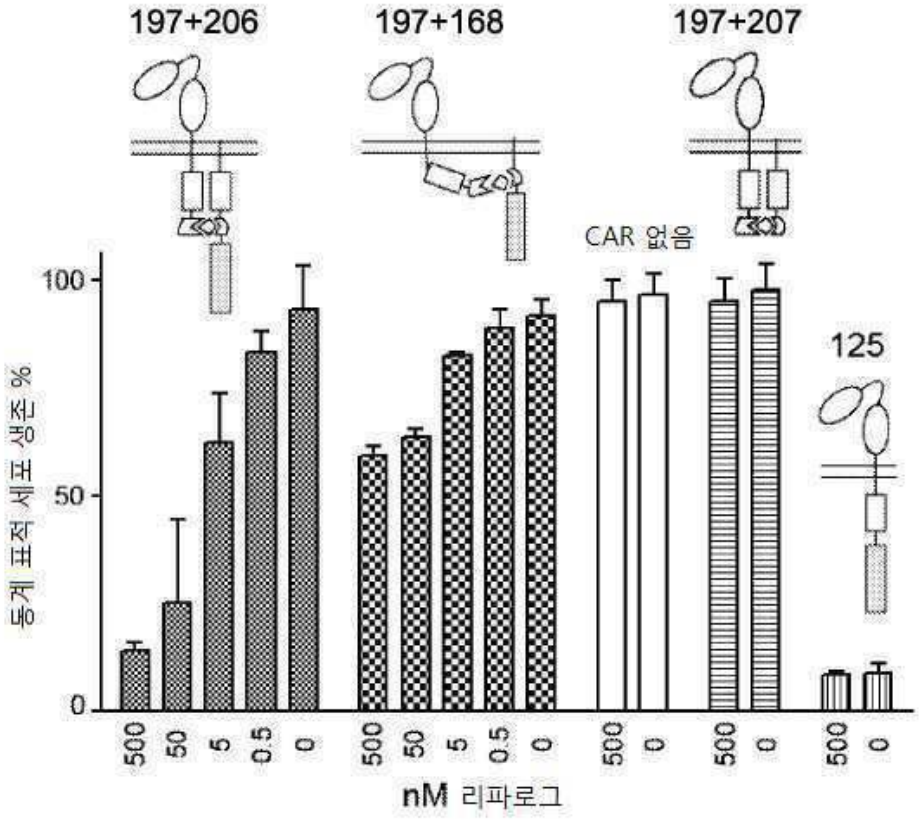

도면 13
60
45
30
15
0
IL-2 생산 (pg/mL)
122+ 126
122+ 170
197+ 170
197+ 207
125
동계 항원
[라파로그] (nM)

도면14


도면 14
90
60
30
0
IL-2 생산 (pg/mL)
122+206
122+207
197+206
197+207
동계 항원
[라파로그] (nM)

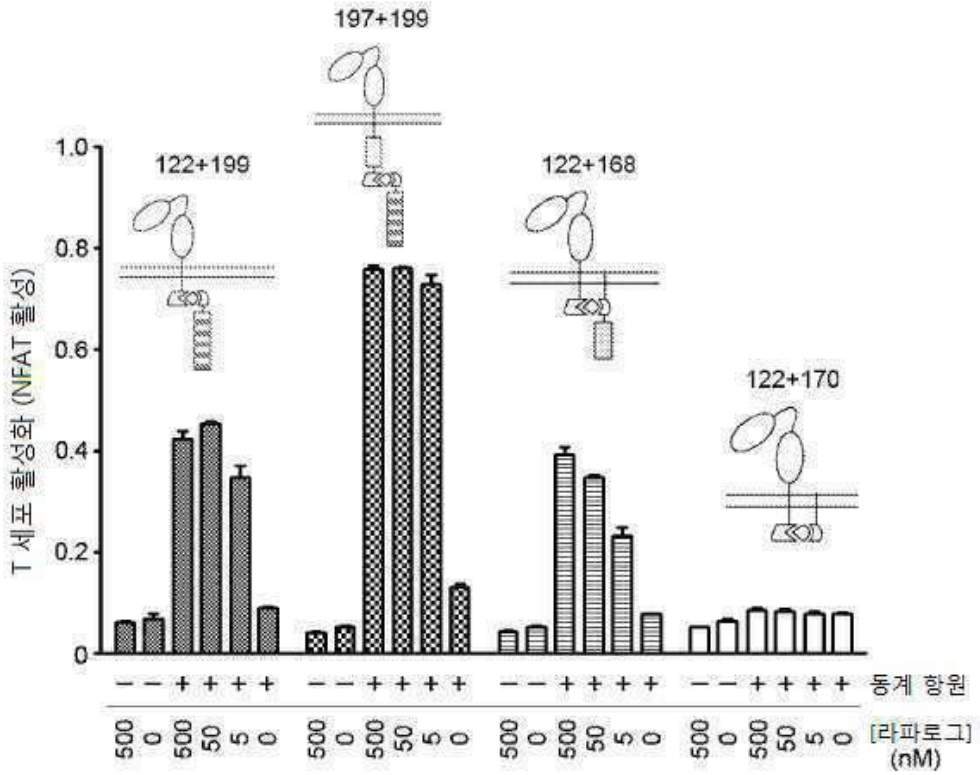
도면15

도면 15

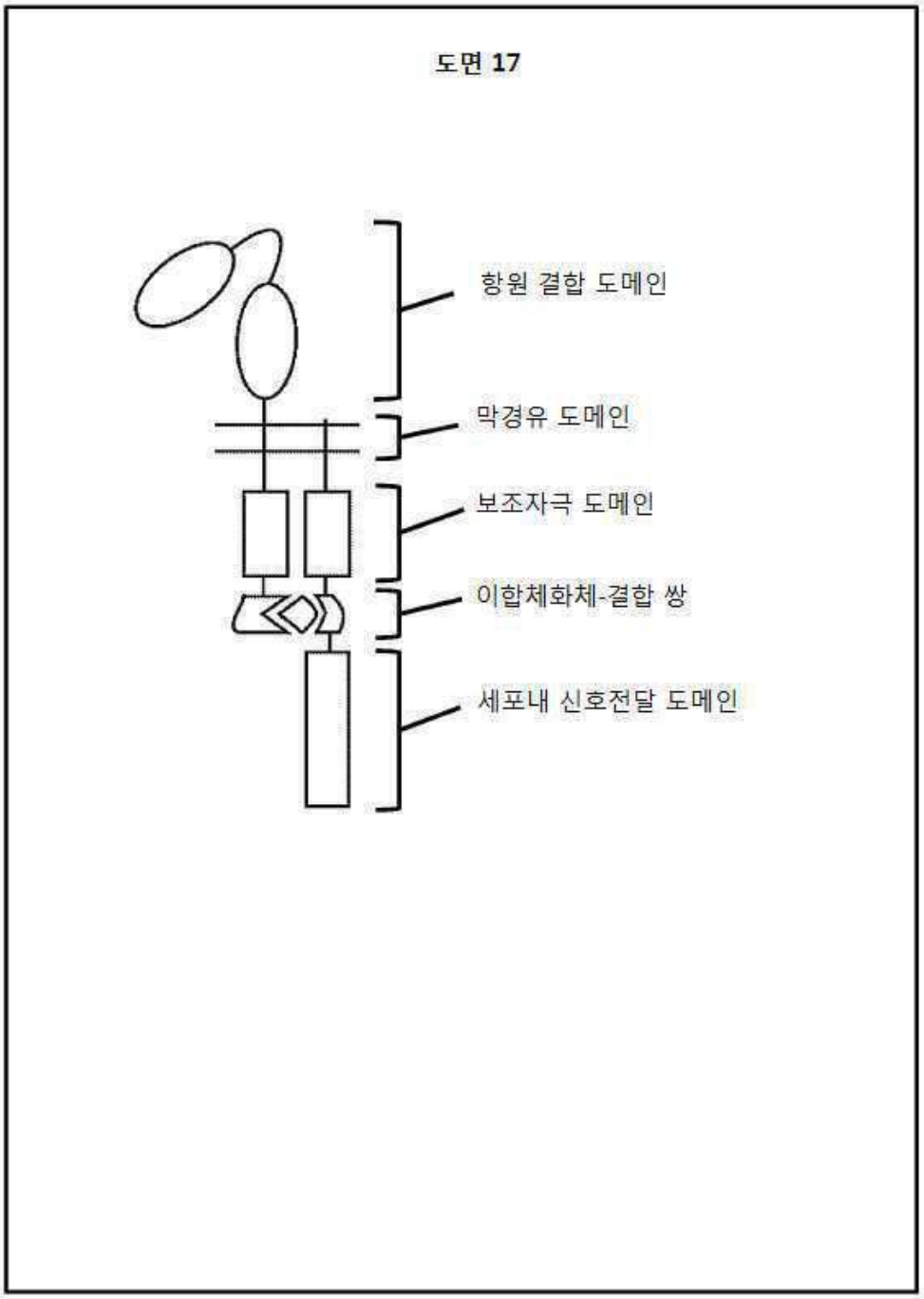

197+206
197+168
197+207
CAR 없음
125
100
50
0
동계 표적 세포 생존 %
500
50
5
0.5
0
500
50
5
0.5
0
500
0
500
0
500
0
nM 리파로그

도면16

도면 16

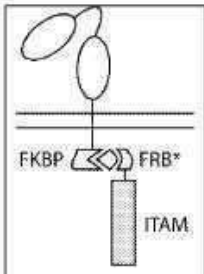
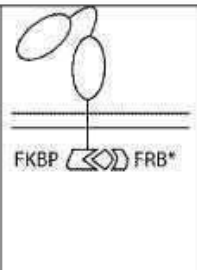
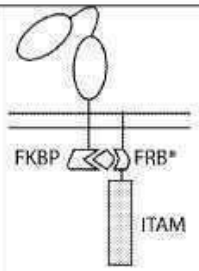
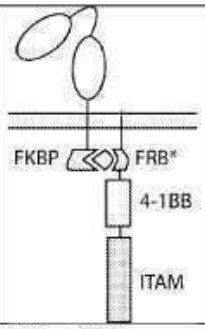
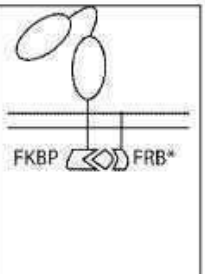

197+199
122+199
122+168
122+170
T 세포 활성화 (NFAT 활성)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
동계 항원
[라파로그] (nM)
500 0 500 50 5 0

도면17



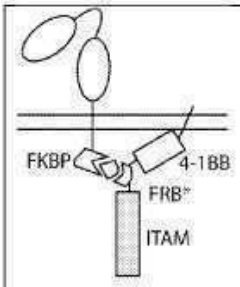
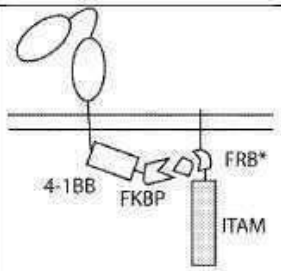
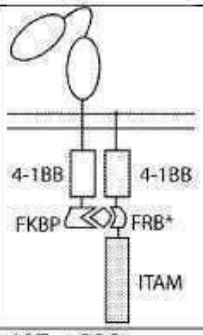
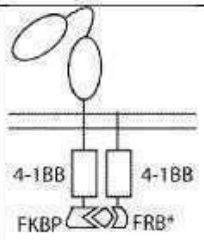
도면18a

도면 18A

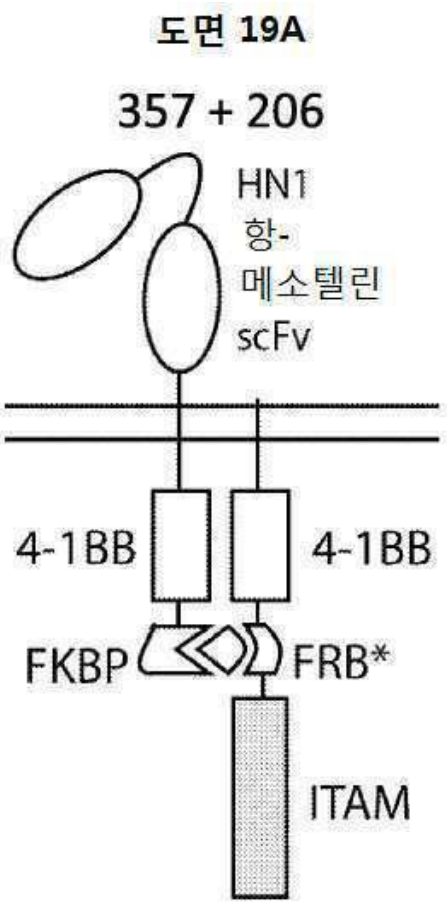
				
122 + 123	122 + 126	122 + 168	122 + 169	122 + 170
완만한 NFAT-의존성 전사를 유도한다.	"122 + 123"에 대한 "신호전달 없음" 대조	"122 + 123"보다 더욱 강한 NFAT-의존성 리포터 유전자 유도; 낮은 IL-2 생산.	낮은 IL-2 생산.	"122 + 168/169/206"에 대한 "신호전달 없음" 대조

도면18b

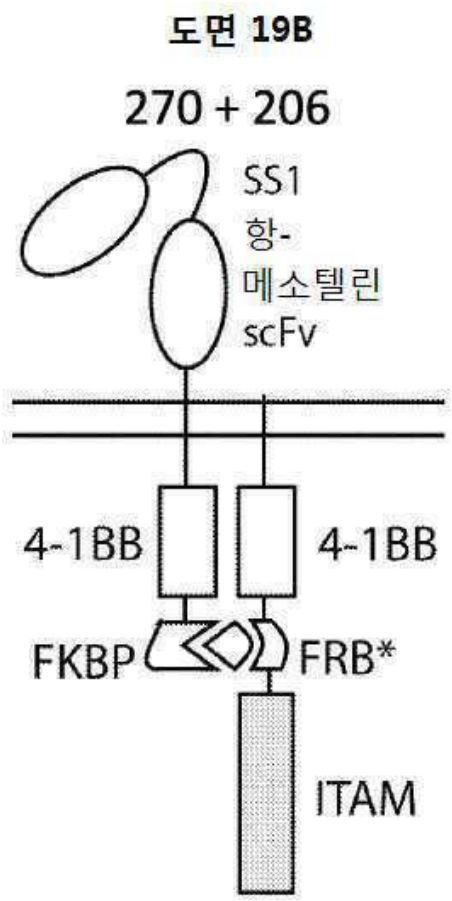
도면 18B

			
122 + 206	197 +168	197 + 206	197 + 207
NFAT를 통한 강한 리포터 유전자 유도; 완만한 IL-2 생산.	NFAT를 통한 강한 리포터 유전자 유도; 완만한 IL-2 생산.	강한 사이토킨 생산과 세포독성; 견실한 온 스위치 기능.	"197 + 168/206"에 대한 "ITAM 없음" 대조

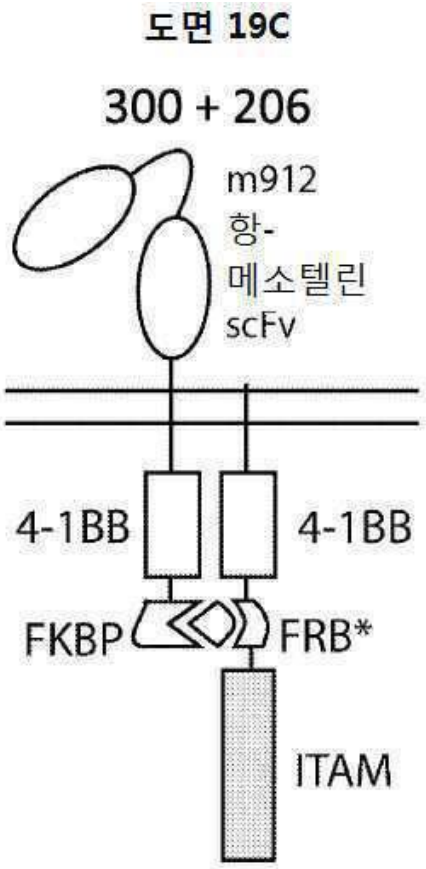
도면19a



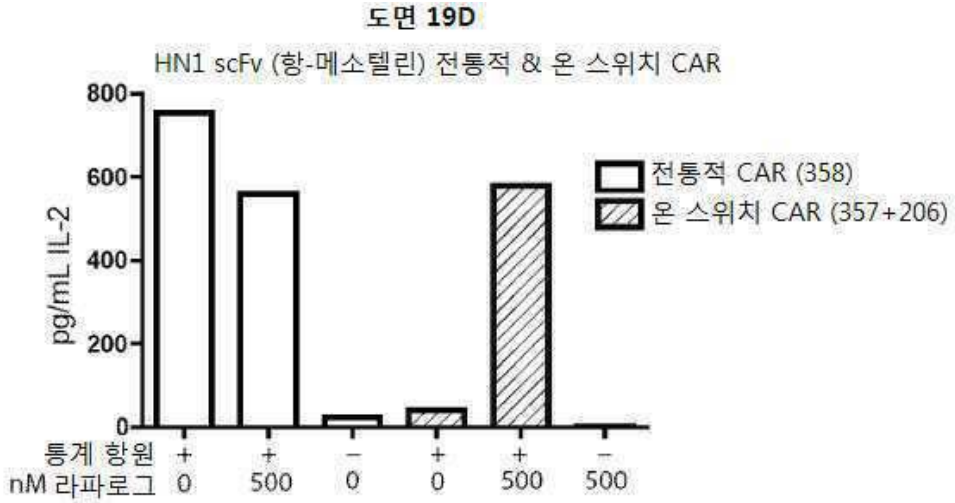
도면19b



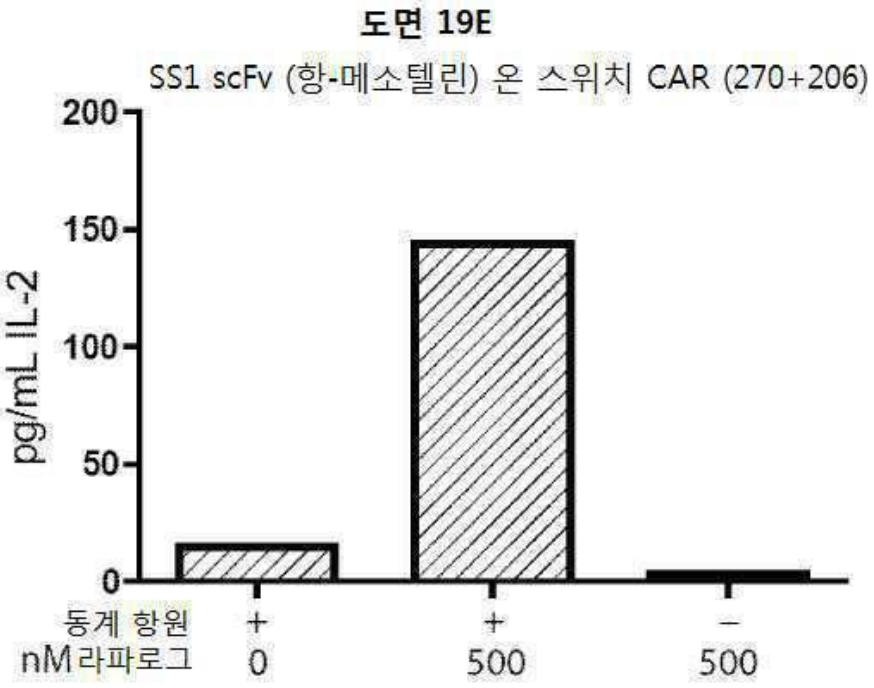
도면19c


도면 19C
300 + 206
m912
항-
메소텔린
scFv
4-1BB
4-1BB
FKBP
FRB*
ITAM

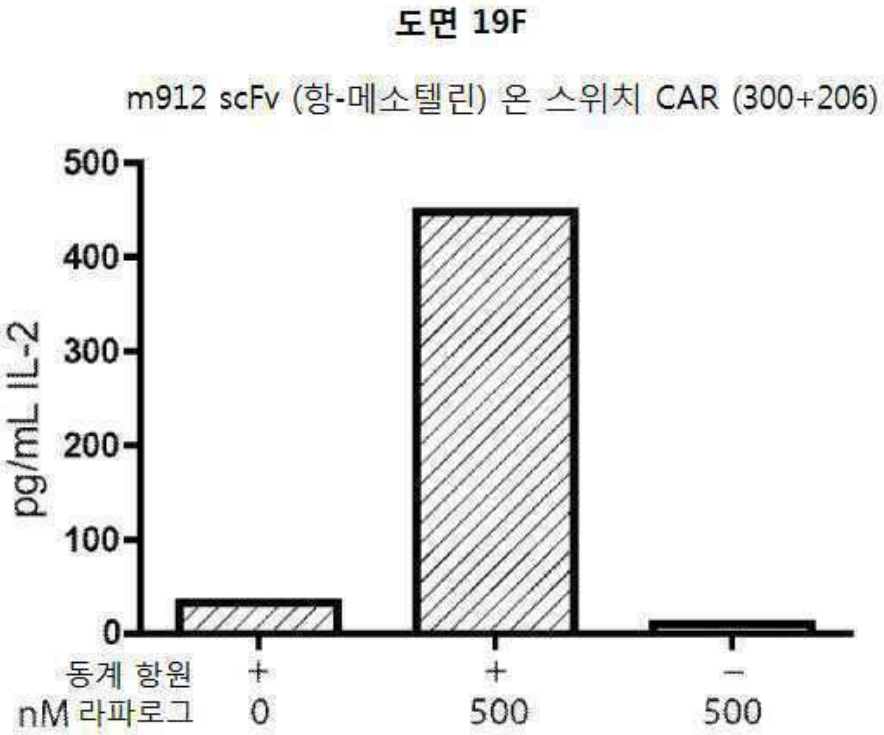
도면19d


도면 19D
HN1 scFv (항-메소텔린) 전통적 & 온 스위치 CAR
pg/mL IL-2
800
600
400
200
0
전통적 CAR (358)
온 스위치 CAR (357+206)
통계 항원 + + − + + −
nM 라파로그 0 500 0 0 500 500

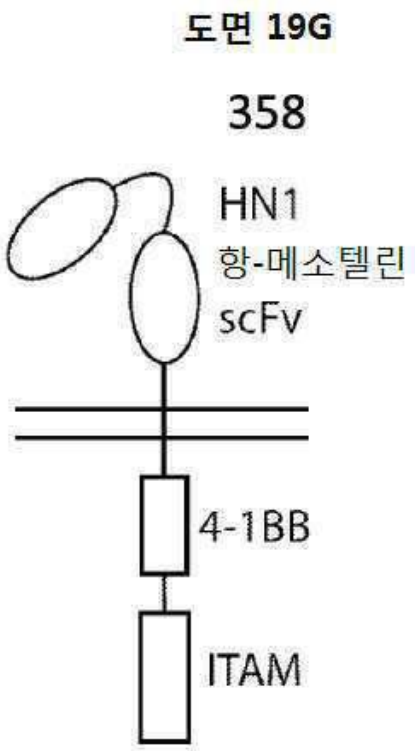
도면19e


도면 19E
SS1 scFv (항-메소텔린) 온 스위치 CAR (270+206)
pg/mL IL-2
200
150
100
50
0
동계 항원
nM 라파로그
+
0
+
500
−
500

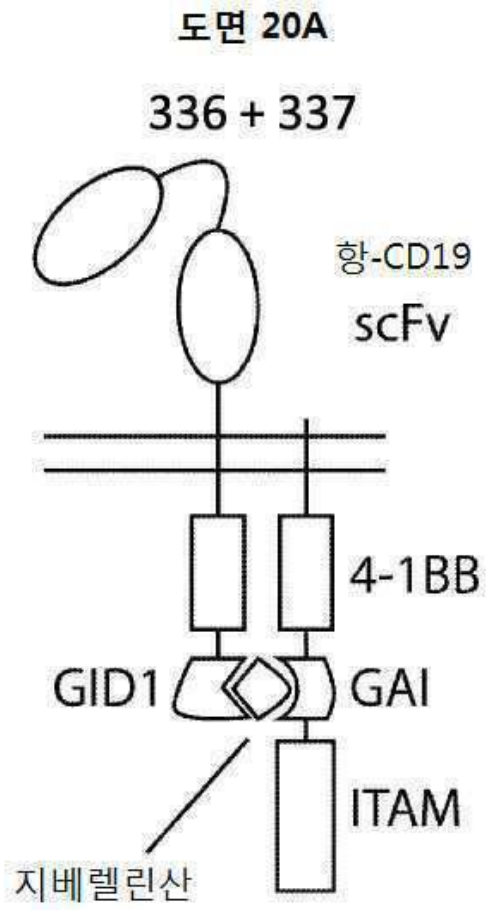
도면19f


도면 19F
m912 scFv (항-메소텔린) 온 스위치 CAR (300+206)
pg/mL IL-2
500
400
300
200
100
0
동계 항원
nM 라파로그
+
0
+
500
−
500

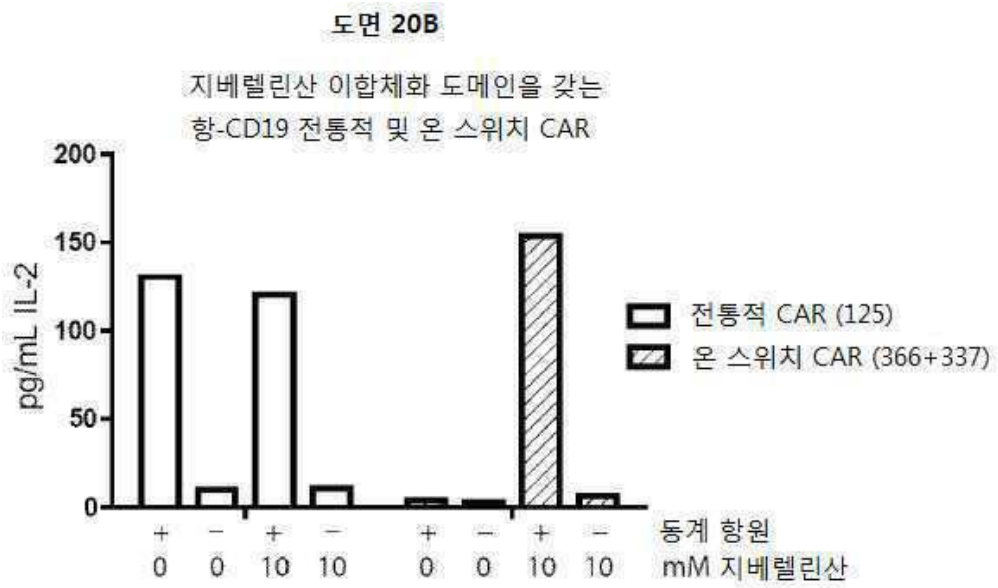
도면19g


도면 19G
358
HN1
항-메소텔린
scFv
4-1BB
ITAM

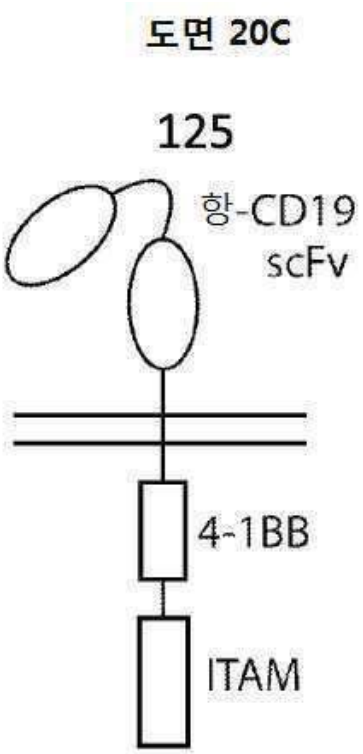
도면20a


도면 20A
336 + 337
항-CD19
scFv
4-1BB
GID1
GAI
ITAM
지베렐린산

도면20b

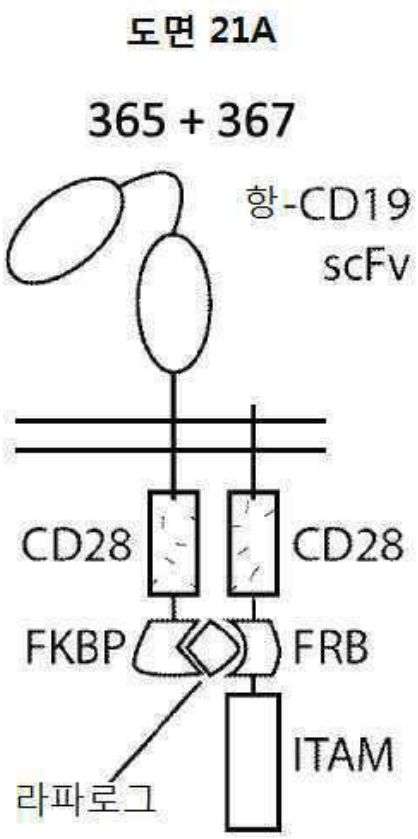

도면 20B
지베렐린산 이합체화 도메인을 갖는
항-CD19 전통적 및 온 스위치 CAR
pg/mL IL-2
200
150
100
50
0
전통적 CAR (125)
온 스위치 CAR (366+337)
+ − + − + − + −
0 0 10 10 0 0 10 10
동계 항원
mM 지베렐린산

도면20c


도면 20C
125
항-CD19
scFv
4-1BB
ITAM

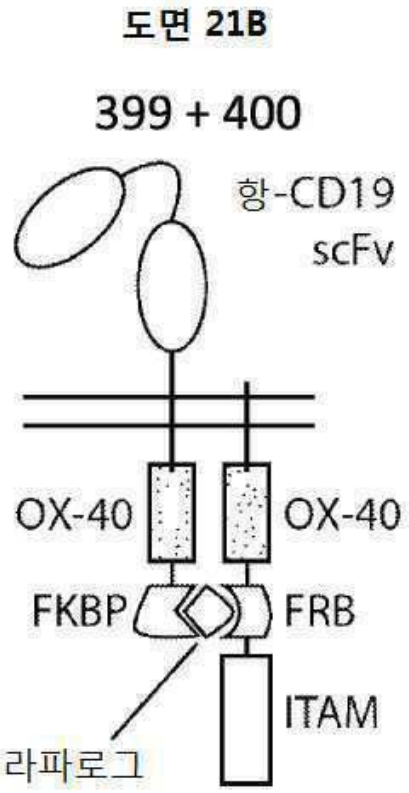
도면21a

도면 21A



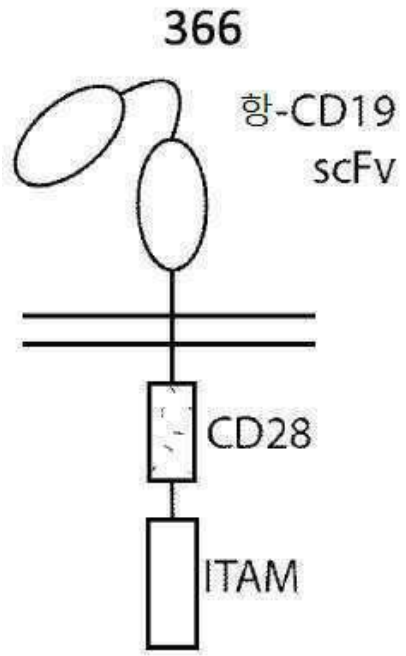
도면21b

도면 21B



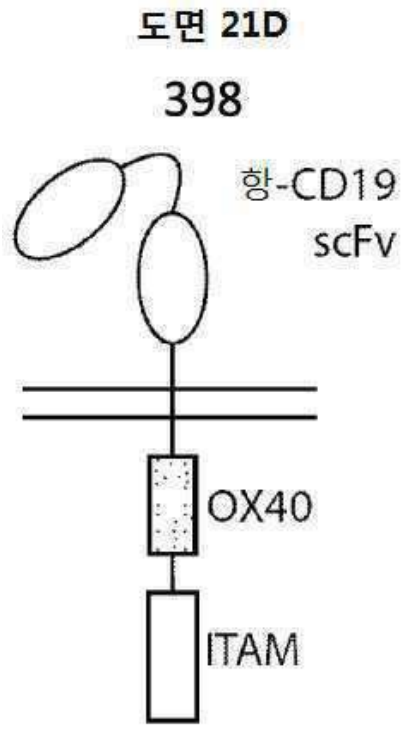
도면21c

도면 21C



도면21d

도면 21D



도면22a

도면 22A와 22B. "항-메소텔린 SS1 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #270

도면 22A

신호 펩티드:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Flag 에피토프 태그:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (서열 번호:132)

DYKDDDDK (서열 번호:123)

항-인간 메소텔린 SS1 scFv:

GGATCCCAGGTACAACTGCAGCAGTCTGGGCCTGAGCTGGAGAAGCCTGGCGCTTCAGTGAAGATATCCT
GCAAGGCTTCTGGTTACTCATTCACTGGCTACACCATGAACTGGGTGAAGCAGAGCCATGGAAAGAGCCT
TGAGTGGATTGGACTTATTACTCCTTACAATGGTGCTTCTAGCTACAACCAGAAGTTCAGGGGCAAGGCC
ACATTAACTGTAGACAAGTCATCCAGCACAGCCTACATGGACCTCCTCAGTCTGACATCTGAAGACTCTG
CAGTCTATTTCTGTGCAAGGGGGGGTTACGACGGGAGGGGTTTTGACTACTGGGGCCAAGGGACCACGGT
CACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCGGTTCAGGCGGCGGTGGCTCTAGCGGTGGcGGATCGGACATCGAGCTC
ACTCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATGACCTGCAGTGCCAGCTCAA
GTGTAAGTTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGTCAGGCACCTCCCCCAAAAGATGGATTTATGACACATC
CAAACTGGCTTCTGGAGTCCCAGGTCGCTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAAACTCTTACTCTCTCACAATC
AGCAGCGTGGAGGCTGAAGATGATGCAACTTATTACTGCCAGCAGTGGAGTAAGCACCCTCTCACGTACG
GTGCTGGGACAAAGTTGGAAATCAAAGCTAGC (서열 번호:133)

GSQVQLQQSGPELEKPGASVKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKSLEWIGLITPYNGAS
SYNQKFRGKATLTVDKSSSTAYMDLLSLTSEDSAVYFCARGGYDGRGFDYWGQGTTVTVS
SGGGGSGGGGSSGGGSDIELTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPK
RWIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSVEAEDDATYYCQQWSKHPLTYGAGTKLE
IKAS (서열 번호:134)

도면22b

도면 22B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SL

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열 번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면23a

도면 23A와 23B. "항-메소텔린 m912 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #300

도면 23A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Flag 에피토프 태그:
GATTACAAGGATGACGATGACAAG (서열 번호:132)
DYKDDDDK (서열 번호:123)

항-메소텔린 m912 scFv:
GGATCCCAGGTGCAGCTGCAGGAATCTGGCCCTGGCCTCGTGAAGCCCAGCGAGACACTGAGCCTGACCT
GTACCGTGTCTGGCGGCTCTGTGTCCAGCGGCAGCTACTACTGGTCCTGGATCAGACAGCCCCCTGGCAA
GGGCCTGGAATGGATCGGCTACATCTACTACAGCGGCTCCACCAACTACAACCCCAGCCTGAAGTCCAGA
GTGACCATCAGCGTGGACACCAGCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCAGCGTGACAGCCGCCGATA
CCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGAGGGCAAGAACGGCGCCTTCGACATCTGGGGCCAGGGCACAATGGT
CACCGTGTCATCTGGTGGAGGAGGATCTGGGGGAGGCGGAAGCGGAGGCGGCGGATCTGATATTCAGATG
ACCCAGAGCCCCAGCAGCCTGAGCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACAATTACCTGCCGGGCCAGCCAGA
GCATCAGCAGCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAACTGCTGATCTACGCCGC
CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCCAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACC
ATCTCTAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCTACAGCACCCCCCTGACCT
TTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG (서열 번호:135)

GSQVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIYYSGS
TNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREGKNGAFDIWGQGTMVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAP
KLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPLTFGGGTKV
EIK (서열 번호:136)

도면23b

도면 23B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SL

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면24a

도면 24A와 24B. "항-인간 CD19 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - GID1A"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #336

도면 24A

신호 펩티드:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)

EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS (서열 번호:6)

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SL

도면24b

도면 24B

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

GID1A:

ATGGCTGCGAGCGATGAAGTTAATCTTATTGAGAGCAGAACAGTGGTTCCTCTCAATACATGGGTTTTAA
TATCCAACTTCAAAGTAGCCTACAATATCCTTCGTCGCCCTGATGGAACCTTTAACCGACACTTAGCTGA
GTATCTAGACCGTAAAGTCACTGCAAACGCCAATCCGGTTGATGGGGTTTTCTCGTTCGATGTCTTGATT
GATCGCAGGATCAATCTTCTAAGCAGAGTCTATAGACCAGCTTATGCAGATCAAGAGCAACCTCCTAGTA
TTTTAGATCTCGAGAAGCCTGTTGATGGCGACATTGTCCCTGTTATATTGTTCTTCCATGGAGGTAGCTT
TGCTCATTCTTCTGCAAACAGTGCCATCTACGATACTCTTTGTCGCAGGCTTGTTGGTTTGTGCAAGTGT
GTTGTTGTCTCTGTGAATTATCGGCGTGCACCAGAGAATCCATACCCTTGTGCTTATGATGATGGTTGGA
TTGCTCTTAATTGGGTTAACTCGAGATCTTGGCTTAAATCCAAGAAAGACTCAAAGGTCCATATTTTCTT
GGCTGGTGATAGCTCTGGAGGTAACATCGCGCATAATGTGGCTTTAAGAGCGGGTGAATCGGGAATCGAT
GTTTTGGGGAACATTCTGCTGAATCCTATGTTTGGTGGGAATGAGAGAACGGAGTCTGAGAAAAGTTTGG
ATGGGAAATACTTTGTGACGGTTAGAGACCGCGATTGGTACTGGAAAGCGTTTTTACCCGAGGGAGAAGA
TAGAGAGCATCCAGCGTGTAATCCGTTTAGCCCGAGAGGGAAAAGCTTAGAAGGAGTGAGTTTCCCCAAG
AGTCTTGTGGTTGTCGCGGGTTTGGATTTGATTAGAGATTGGCAGTTGGCATACGCGGAAGGGCTCAAGA
AAGCGGGTCAAGAGGTTAAGCTTATGCATTTAGAGAAAGCAACTGTTGGGTTTTACCTCTTGCCTAATAA
CAATCATTTCCATAATGTTATGGATGAGATTTCGGCGTTTGTAAACGCGGAATGTATGCGTGAC (서열
번호:137)

MAASDEVNLIESRTVVPLNTWVLISNFKVAYNILRRPDGTFNRHLAEYLDRKVTANANPV
DGVFSFDVLIDRRINLLSRVYRPAYADQEQPPSILDLEKPVDGDIVPVILFFHGGSFAHS
SANSAIYDTLCRRLVGLCKCVVVSVNYRRAPENPYPCAYDDGWIALNWVNSRSWLKSKKD
SKVHIFLAGDSSGGNIAHNVALRAGESGIDVLGNILLNPMFGGNERTESEKSLDGKYFVT
VRDRDWYWKAFLPEGEDREHPACNPFSPRGKSLEGVSFPKSLVVVAGLDLIRDWQLAYAE
GLKKAGQEVKLMHLEKATVGFYLLPNNNHFHNVMDEISAFVNAECMRD (서열 번호:138)

도면25a

도면 25A와 25B. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - GAI - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #337

도면 25A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:

ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:

Tctctg
SL

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)
GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

GAI N 말단:

ATGAAGAGAGATCATCATCATCATCATCATCAAGATAAGAAGACTATGATGATGAATGAAGAAGACGACG
GTAACGGCATGGATGAGCTTCTAGCTGTTCTTGGTTACAAGGTTAGGTCATCCGAAATGGCTGATGTTGC
TCAGAAACTCGAGCAGCTTGAAGTTATGATGTCTAATGTTCAAGAAGACGATCTTTCTCAACTCGCTACT
GAGACTGTTCACTATAATCCGGCGGAGCTTTACACGTGGCTTGATTCTATGCTCACCGACCTTAAT
(서열 번호:139)

MKRDHHHHHHQDKKTMMMNEEDDGNGMDELLAVLGYKVRSSEMADVAQKLEQLEVMMSNV
QEDDLSQLATETVHYNPAELYTWLDSMLTDLN (서열 번호:140)

도면25b

도면 25B

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)

GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열번호:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)

SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPSDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열번호:22)

도면26a

도면 26A와 26B. "항-메소텔린 HN1 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #357

도면 26A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Flag 에피토프 태그:
GATTACAAGGATGACGATGACAAG (서열 번호:132)
DYKDDDDK (서열 번호:123)

항-인간 메소텔린 HN1 scFv:
GGATCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAGACCAGGCGCCAGCGTGCAGGTCTCCT
GTAGAGCCAGCGGCTACAGCATCAACACCTACTACATGCAGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCGCTGGACT
GGAATGGATGGGCGTGATCAACCCCAGCGGCGTGACAAGCTACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACC
CTGACCAACGACACCAGCACCAACACAGTGTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGCCGACACCGCCG
TGTACTACTGTGCCAGATGGGCCCTGTGGGGCGACTTCGGCATGGATGTGTGGGGCAAGGGCACCCTCGT
GACCGTGTCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTGGAGGCGGCGGAAGCGACATCCAGATG
ACCCAGAGCCCTAGCACCCTGAGCGCCAGCATCGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCGAGG
GCATCTATCACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGC
CAGCTCTCTGGCCTCTGGCGCCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACA
ATCAGCAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACAGCAACTACCCCCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG (서열 번호:141)

GSQVQLVQSGAEVKRPGASVQVSCRASGYSINTYYMQWVRQAPGAGLEWMGVINPSGVTS
YAQKFQGRVTLTNDTSTNTVYMQLNSLTSADTAVYYCARWALWGDFGMDVWGKGTLVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASEGIYHWLAWYQQKPGKAP
KLLIYKASSLASGAPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYYCQQYSNYPLTFGGGTKL
EIK (서열 번호:142)

도면26b

도면 26B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

링커:

TCCCTA
SL

인간 4-1BB 세포내 사슬:

AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면27a

도면 27A와 27B. "항- CD19 scFv - CD8 알파 힌지 - CD28 막경유 도메인과 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #365

도면 27A

신호 펩티드:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:

GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)

EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:

GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS (서열 번호:6)

도면27b

도면 27B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT (서열
번호:143)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호:56)

인간 CD28 막경유 도메인과 세포내 신호전달 사슬:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCC
CGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (서열
번호:144)

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (서열 번호:121)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:

ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면28a

도면 28A와 28B. 전통적 CAR "항-CD19 scFv - CD8 알파 힌지 - CD28 막경유 도메인과 세포내 사슬 - CD3 제타 세포내 사슬"을 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는구조체 #366

도면 28A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)
EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS (서열 번호:6)

도면28b

도면 28B

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGAT (서열 번호:143)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호:56)

인간 CD28 막경유 도메인과 세포내 사슬:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCC
CGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (서열 번호:144)

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (서열 번호:121)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCtCCTCGC (서열번호:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:26)

도면29a

도면 29A와 29B. "DAP10 세포외 도메인 - CD28 막경유 도메인과 세포내 사슬 - FRB - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #367

도면 29A

인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:

Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD28 막경유 도메인과 세포내 신호전달 사슬:

TTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTA
TTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCC
CGGGCCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCC (서열
번호:144)

FWVLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPP
RDFAAYRS (서열 번호:121)

링커:

GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)
GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

FRB:

ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLME
AQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호:15)
GSGSGSGSSL (서열 번호:16)

도면29b

도면 29B

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열번호:17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호:21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPSDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열번호:22)

도면30a

도면 30A와 30B. 전통적 CAR "항-CD19 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 0X40 & CD3 제타 세포내 사슬"을 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #398

도면 30A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)
EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS (서열 번호:6)

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:
ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

링커:
TCCCTA
SL

도면30b

도면 30B

인간 0X40 세포내 사슬:

CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCCGATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (서열 번호:145)

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열 번호:65)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열번호:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:26)

도면31a

도면 31A와 31B. "항-CD19 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 0X40 세포내 사슬 - FKBP"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #399

도면 31A
신호 펩티드:
ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)
MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Myc 에피토프 태그:
GAGCAGAAGCTGATCAGCGAGGAGGACCTG (서열 번호:3)
EQKLISEEDL (서열 번호:4)

항-인간 CD19 scFv:
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCA
GGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACTGTTAAACTCCT
GATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGAT
TATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGC
TTCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCTCGGGCGGTGGTGGGTC
GGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTCACAGAGCCTG
TCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAGCTGGATTCGCCAGCCTCCAC
GAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATC
CAGACTGACCATCATCAAGGACAACTCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGAT
GACACAGCCATTTACTACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCA (서열 번호:5)

DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGTKLEITGGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTV
SS (서열 번호:6)

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:
ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

도면31b

도면 31B
링커:
TCCCTA
SL

인간 0X40 세포내 사슬:
CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCCGATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (서열 번호:145)

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열 번호:65)

링커:
TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:19)
SRGSGSGSGS (서열 번호:20)

FKBP:
ATGGGAGTcCAGGTGGAAACCATCTCCCCAGGAGACGGGCGCACCTTCCCCAAGCGCGGCCAGACCTGCG
TGGTGCACTACACCGGGATGCTTGAAGATGGAAAGAAATTTGATTCCTCCCGGGACAGAAACAAGCCCTT
TAAGTTTATGCTAGGCAAGCAGGAGGTGATCCGAGGCTGGGAAGAAGGGGTTGCCCAGATGAGTGTGGGT
CAGAGAGCCAAACTGACTATATCTCCAGATTATGCCTATGGTGCCACTGGGCACCCAGGCATCATCCCAC
CACATGCCACTCTCGTCTTCGATGTGGAGCTTCTAAAACTGGAA (서열 번호:11)

MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGW
EEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE (서열 번호:12)

도면32a

도면 32A와 32B. "DAP10 세포외 도메인 - CD8 알파 막경유 도메인 - 0X40 세포내 사슬 - FRB - CD3 제타 세포내 사슬 - mCherry"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #400

도면 32A
인간 DAP10 신호 서열과 세포외 도메인:
Atgatccatctgggtcacatcctcttcctgcttttgctcccagtggctgcagctcagacgactccaggag
agagatcatcactccctgccttttaccctggcacttcaggctcttgttccggatgtgggtccctctctct
gccg (서열 번호:27)

MIHLGHILFLLLLPVAAAQTTPGERSSLPAFYPGTSGSCSGCGSLSLP (서열 번호:28)

인간 CD8알파 막경유 도메인:
ATCTACATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACT
GC (서열 번호:29)

IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호:30)

링커:
Tctctg
SL

인간 0X40 세포내 사슬:
CGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCCGATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGGCAGTTTCCGGACCCCCATCC
AAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATC (서열 번호:145)

RRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI (서열 번호:65)

링커:
GGtTCCGGcAGCGGaTCTGGtAGcGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호:31)
GSGSGSGSGSGSGSGS (서열 번호:32)

FRB:
ATCCTCTGGCATGAGATGTGGCATGAAGGCCTGGAAGAGGCATCTCGTTTGTACTTTGGGGAAAGGAACG
TGAAAGGCATGTTTGAGGTGCTGGAGCCCTTGCATGCTATGATGGAACGGGGCCCCCAGACTCTGAAGGA
AACATCCTTTAATCAGGCCTATGGTCGAGATTTAATGGAGGCCCAAGAGTGGTGCAGGAAGTACATGAAA
TCAGGGAATGTCAAGGACCTCCTCCAAGCCTGGGACCTCTATTATCATGTGTTCCGACGAATCTCAAAG
(서열 번호:33)

ILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLME
AQEWCRKYMKSGNVKDLLQAWDLYYHVFRRISK (서열 번호:34)

도면32b

도면 32B

링커:

GGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCTTCCCTA (서열 번호: 15)

GSGSGSGSSL (서열 번호: 16)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:

AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC (서열 번호: 17)

RVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호: 18)

링커:

TCGCGAGGAAGCGGGTCCGGTAGCGGATCT (서열 번호: 19)

SRGSGSGSGS (서열 번호: 20)

mCherry:

ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGGATAACATGGCCATCATCAAGGAGTTCATGCGCTTCAAGGTGCACATGG
AGGGCTCCGTGAACGGCCACGAGTTCGAGATCGAGGGCGAGGGCGAGGGCCGCCCCTACGAGGGCACCCA
GACCGCCAAGCTGAAGGTGACCAAGGGTGGCCCCCTGCCCTTCGCCTGGGACATCCTGTCCCCTCAGTTC
ATGTACGGCTCCAAGGCCTACGTGAAGCACCCCGCCGACATCCCCGACTACTTGAAGCTGTCCTTCCCCG
AGGGCTTCAAGTGGGAGCGCGTGATGAACTTCGAGGACGGCGGCGTGGTGACCGTGACCCAGGACTCCTC
CCTGCAGGACGGCGAGTTCATCTACAAGGTGAAGCTGCGCGGCACCAACTTCCCCTCCGACGGCCCCGTA
ATGCAGAAGAAGACCATGGGCTGGGAGGCCTCCTCCGAGCGGATGTACCCCGAGGACGGCGCCCTGAAGG
GCGAGATCAAGCAGAGGCTGAAGCTGAAGGACGGCGGCCACTACGACGCTGAGGTCAAGACCACCTACAA
GGCCAAGAAGCCCGTGCAGCTGCCCGGCGCCTACAACGTCAACATCAAGTTGGACATCACCTCCCACAAC
GAGGACTACACCATCGTGGAACAGTACGAACGCGCCGAGGGCCGCCACTCCACCGGCGGCATGGACGAGC
TGTACAAG (서열 번호: 21)

MVSKGEEDNMAIIKEFMRFKVHMEGSVNGHEFEIEGEGEGRPYEGTQTAKLKVTKGGPLP
FAWDILSPQFMYGSKAYVKHPADIPDYLKLSFPEGFKWERVMNFEDGGVVTVTQDSSLQD
GEFIYKVKLRGTNFPSDGPVMQKKTMGWEASSERMYPEDGALKGEIKQRLKLKDGGHYDA
EVKTTYKAKKPVQLPGAYNVNIKLDITSHNEDYTIVEQYERAEGRHSTGGMDELYK (서열 번호: 22)

도면33a

도면 33A와 33B. 전통적 CAR "항-메소텔린 HN1 scFv - CD8 알파 힌지와 막경유 도메인 - 4-1BB & CD3 제타 세포내 사슬"를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩하는 구조체 #358

도면 33A

신호 펩티드:

ATGGCCTTACCAGTGACCGCCTTGCTCCTGCCGCTGGCCTTGCTGCTCCACGCCGCCAGGCCG (서열 번호:1)

MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호:2)

Flag 에피토프 태그:

GATTACAAGGATGACGATGACAAG (서열 번호:132)

DYKDDDDK (서열 번호:123)

항-인간 메소텔린 HN1 scFv:

GGATCCCAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAAAGACCAGGCGCCAGCGTGCAGGTCTCCT
GTAGAGCCAGCGGCTACAGCATCAACACCTACTACATGCAGTGGGTGCGCCAGGCCCCAGGCGCTGGACT
GGAATGGATGGGCGTGATCAACCCCAGCGGCGTGACAAGCTACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACC
CTGACCAACGACACCAGCACCAACACAGTGTACATGCAGCTGAACAGCCTGACCAGCGCCGACACCGCCG
TGTACTACTGTGCCAGATGGGCCCTGTGGGGCGACTTCGGCATGGATGTGTGGGGCAAGGGCACCCTCGT
GACCGTGTCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGGGGATCTGGAGGCGGCGGAAGCGACATCCAGATG
ACCCAGAGCCCTAGCACCCTGAGCGCCAGCATCGGCGATAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCAGCGAGG
GCATCTATCACTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGC
CAGCTCTCTGGCCTCTGGCGCCCCTAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACA
ATCAGCAGCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTACAGCAACTACCCCCTGACCT
TCGGCGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAG (서열 번호:141)

GSQVQLVQSGAEVKRPGASVQVSCRASGYSINTYYMQWVRQAPGAGLEWMGVINPSGVTS
YAQKFQGRVTLTNDTSTNTVYMQLNSLTSADTAVYYCARWALWGDFGMDVWGKGTLVTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSTLSASIGDRVTITCRASEGIYHWLAWYQQKPGKAP
KLLIYKASSLASGAPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYYCQQYSNYPLTFGGGTKL
EIK (서열 번호:142)

인간 CD8 알파 세포외 스페이서/힌지와 막경유 도메인:

ACCACGACGCCAGCGCCGCGACCACCAACACCGGCGCCCACCATCGCGTCGCAGCCCCTGTCCCTGCGCC
CAGAGGCGTGCCGGCCAGCGGCGGGGGGCGCAGTGCACACGAGGGGGCTGGACTTCGCCTGTGATATCTA
CATCTGGGCGCCCTTGGCCGGGACTTGTGGGGTCCTTCTCCTGTCACTGGTTATCACCCTTTACTGC
(서열 번호:7)

TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLL
LSLVITLYC (서열 번호:8)

도면33b

도면 33B
링커:
TCCCTA
SL

인간 4-1BB 세포내 사슬:
AAACGGGGCAGAAAGAAACTCCTGTATATATTCAAACAACCATTTATGAGACCAGTACAAACTACTCAAG
AGGAAGATGGCTGTAGCTGCCGATTTCCAGAAGAAGAAGAAGGAGGATGTGAACTG (서열번호:23)

KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호:24)

인간 CD3 제타 세포내 사슬:
AGAGTGAAGTTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAGC
TCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCTGAGATGGGGGG
AAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCC
TACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCA
GTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCCCTTCACATGCAGGCCCTGCCtCCTCGC (서열번호:25)

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR (서열 번호:26)

서 열 목 록

<110> THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

<120> CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR AND METHODS OF USE THEREOF

<130> IP19-0039D3

<150> 61/765,585

<151> 2013-02-15

<160> 145

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 1

atggccttac cagtgaccgc cttgctcctg ccgctggcct tgctgctcca cgccgccagg 60

ccg 63

<210> 2

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 2

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

His Ala Ala Arg Pro
20

<210> 3

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 3

gagcagaagc tgatcagcga ggaggacctg 30

<210> 4

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 4

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

<210> 5

<211> 726

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 5

gacatccaga tgacacagac tacatcctcc ctgtctgcct ctctgggaga cagagtcacc 60

atcagttgca gggcaagtca ggacattagt aaatatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gatggaactg ttaaactcct gatctaccat acatcaagat tacactcagg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgggtc tggaacagat tattctctca ccattagcaa cctggagcaa 240

gaagatattg ccacttactt ttgccaacag ggtaatacgc ttccgtacac gttcggaggg 300

gggaccaagc tggagatcac aggtggcggt ggctcgggcg gtggtgggtc gggtggcggc 360

ggatctgagg tgaaactgca ggagtcagga cctggcctgg tggcgccctc acagagcctg 420

tccgtcacat gcactgtctc aggggtctca ttacccgact atggtgtaag ctggattcgc 480

cagcctccac gaaagggtct ggagtggctg ggagtaatat ggggtagtga aaccacatac 540

tataattcag ctctcaaatc cagactgacc atcatcaagg acaactccaa gagccaagtt 600

ttcttaaaaa tgaacagtct gcaaactgat gacacagcca tttactactg tgccaaacat 660

tattactacg gtggtagcta tgctatggac tactggggcc aaggaacctc agtcaccgtc 720

tcctca 726

<210> 6

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 6

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Gly Val Ser Leu Pro Asp Tyr Gly Val Ser Trp Ile Arg

145 150 155 160

Gln Pro Pro Arg Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser

165 170 175

Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile

180 185 190

Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln

195 200 205

Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly

210 215 220

Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val

225 230 235 240

Ser Ser

<210> 7

<211> 207

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 7

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc cagtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgatatcta catctgggcg cccttggccg ggacttgtgg ggtccttctc 180

ctgtcactgg ttatcaccct ttactgc 207

<210> 8

<211> 69

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 8

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp Ile Tyr Ile

35 40 45

Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu Ser Leu Val

50 55 60

Ile Thr Leu Tyr Cys

65

<210> 9

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 9

tccctaggaa gcgggtccgg tagcggatct 30

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 10

Ser Leu Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 11

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 11

atgggagtcc aggtggaaac catctcccca ggagacgggc gcaccttccc caagcgcggc 60

cagacctgcg tggtgcacta caccgggatg cttgaagatg gaaagaaatt tgattcctcc 120

cgggacagaa acaagccctt taagtttatg ctaggcaagc aggaggtgat ccgaggctgg 180

gaagaagggg ttgcccagat gagtgtgggt cagagagcca aactgactat atctccagat 240

tatgcctatg gtgccactgg gcacccaggc atcatcccac cacatgccac tctcgtcttc 300

gatgtggagc ttctaaaact ggaa 324

<210> 12

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 12

Met Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe
1 5 10 15

Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu
20 25 30

Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys
35 40 45

Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val
50 55 60

Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp
65 70 75 80

Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala
85 90 95

Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu
100 105

<210> 13

<211> 282

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 13

atgatcctct ggcatgagat gtggcatgaa ggcctggaag aggcatctcg tttgtacttt 60

ggggaaagga acgtgaaagg catgtttgag gtgctggagc ccttgcatgc tatgatggaa 120

cggggccccc agactctgaa ggaaacatcc tttaatcagg cctatggtcg agatttaatg 180

gaggcccaag agtggtgcag gaagtacatg aaatcaggga atgtcaagga cctcctccaa 240

gcctgggacc tctattatca tgtgttccga cgaatctcaa ag 282

<210> 14

<211> 94

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 14

Met Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser
1 5 10 15

Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu
20 25 30

Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu
35 40 45

Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu
50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys
85 90

<210> 15

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 15

ggaagcgggt ccggtagcgg atcttcccta 30

<210> 16

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 16

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Ser Leu

1 5 10

<210> 17

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 17

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtacc agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgccc cctcgc 336

<210> 18

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr

20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys

35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys

50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg

65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg

100 105 110

<210> 19

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 19

tcgcgaggaa gcgggtccgg tagcggatct 30

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 20

Ser Arg Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

1 5 10

<210> 21

<211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 21

atggtgagca agggcgagga ggataacatg gccatcatca aggagttcat gcgcttcaag 60

gtgcacatgg agggctccgt gaacggccac gagttcgaga tcgagggcga gggcgagggc 120

cgcccctacg agggcaccca gaccgccaag ctgaaggtga ccaagggtgg cccctgccc 180

ttcgcctggg acatcctgtc ccctcagttc atgtacggct ccaaggccta cgtgaagcac 240

cccgccgaca tccccgacta cttgaagctg tccttccccg agggcttcaa gtgggagcgc 300

gtgatgaact tcgaggacgg cggcgtggtg accgtgaccc aggactcctc cctgcaggac 360

ggcgagttca tctacaaggt gaagctgcgc ggcaccaact tcccctccga cggccccgta 420

atgcagaaga agaccatggg ctgggaggcc tcctccgagc ggatgtaccc cgaggacggc 480

gccctgaagg gcgagatcaa gcagaggctg aagctgaagg acggcggcca ctacgacgct 540

gaggtcaaga ccacctacaa ggccaagaag cccgtgcagc tgcccggcgc ctacaacgtc 600

aacatcaagt tggacatcac ctcccacaac gaggactaca ccatcgtgga acagtacgaa 660

cgcgccgagg gccgccactc caccggcggc atggacgagc tgtacaag 708

<210> 22

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 22

Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Asp Asn Met Ala Ile Ile Lys Glu Phe
1 5 10 15

Met Arg Phe Lys Val His Met Glu Gly Ser Val Asn Gly His Glu Phe
20 25 30

Glu Ile Glu Gly Glu Gly Glu Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Thr Gln Thr
35 40 45

Ala Lys Leu Lys Val Thr Lys Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Trp Asp
50 55 60

Ile Leu Ser Pro Gln Phe Met Tyr Gly Ser Lys Ala Tyr Val Lys His
65 70 75 80

Pro Ala Asp Ile Pro Asp Tyr Leu Lys Leu Ser Phe Pro Glu Gly Phe
85 90 95

Lys Trp Glu Arg Val Met Asn Phe Glu Asp Gly Gly Val Val Thr Val
100 105 110

Thr Gln Asp Ser Ser Leu Gln Asp Gly Glu Phe Ile Tyr Lys Val Lys
115 120 125

Leu Arg Gly Thr Asn Phe Pro Ser Asp Gly Pro Val Met Gln Lys Lys
130 135 140

Thr Met Gly Trp Glu Ala Ser Ser Glu Arg Met Tyr Pro Glu Asp Gly
145 150 155 160

Ala Leu Lys Gly Glu Ile Lys Gln Arg Leu Lys Leu Lys Asp Gly Gly
165 170 175

His Tyr Asp Ala Glu Val Lys Thr Thr Tyr Lys Ala Lys Lys Pro Val
180 185 190

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

195 200 205

His Asn Glu Asp Tyr Thr Ile Val Glu Gln Tyr Glu Arg Ala Glu Gly

210 215 220

Arg His Ser Thr Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys

225 230 235

<210> 23

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 23

aaacggggca gaaagaaact cctgtatata ttcaaacaac catttatgag accagtacaa 60

actactcaag aggaagatgg ctgtagctgc cgatttccag aagaagaaga aggaggatgt 120

gaactg 126

<210> 24

<211> 42

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 24

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 25

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 25

agagtgaagt tcagcaggag cgcagacgcc cccgcgtaca agcagggcca gaaccagctc 60

tataacgagc tcaatctagg acgaagagag gagtacgatg ttttggacaa gagacgtggc 120

cgggaccctg agatgggggg aaagccgaga aggaagaacc ctcaggaagg cctgtacaat 180

gaactgcaga aagataagat ggcggaggcc tacagtgaga ttgggatgaa aggcgagcgc 240

cggaggggca aggggcacga tggcctttac cagggtctca gtacagccac caaggacacc 300

tacgacgccc ttcacatgca ggccctgcct cctcgc 336

<210> 26

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 26

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 27

<211> 144

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 27

atgatccatc tgggtcacat cctcttcctg cttttgctcc cagtggctgc agctcagacg 60

actccaggag agagatcatc actccctgcc ttttaccctg gcacttcagg ctcttgttcc 120

ggatgtgggt ccctctctct gccg 144

<210> 28

<211> 48

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 28

Met Ile His Leu Gly His Ile Leu Phe Leu Leu Leu Leu Pro Val Ala

1 5 10 15

Ala Ala Gln Thr Thr Pro Gly Glu Arg Ser Ser Leu Pro Ala Phe Tyr

20 25 30

Pro Gly Thr Ser Gly Ser Cys Ser Gly Cys Gly Ser Leu Ser Leu Pro

35 40 45

<210> 29

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 29

atctacatct gggcgcccttggccgggact tgtggggtcc ttctcctgtc actggttatc 60

acccttact gc 72

<210> 30

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 30

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20

<210> 31

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 31

ggttccggca gcggatctgg tagcggaagc gggtccggta gcggatct 48

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 33

atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc ctggaagagg catctcgttt gtactttggg 60

gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg 120

ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag 180

gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa tcagggaatg tcaaggacct cctccaagcc 240

tgggacctct attatcatgt gttccgacga atctcaaag 279

<210> 34

<211> 93

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 34

Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg
1 5 10 15

Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu
20 25 30

Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr
35 40 45

Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp
50 55 60

Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Leu Gln Ala
65 70 75 80

Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Lys

85 90

<210> 35

<211> 1857

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 35

atgccagacc ccgcggcgca tctgcccttc ttctacggca gcatctcgcg tgccgaggcc 60

gaggagcacc tgaagctggc gggcatggcg gacgggctct tcctgctgcg ccagtgcctg 120

cgctcgctgg gcggctatgt gctgtcgctc gtgcacgatg tgcgcttcca ccactttccc 180

atcgagcgcc agctcaacgg cacctacgcc attgccggcg gcaaagcgca ctgtggaccg 240

gcagagctct gcgagttcta ctcgcgcgac cccgacgggc tgccctgcaa cctgcgcaag 300

ccgtgcaacc ggccgtcggg cctcgagccg cagccggggg tcttcgactg cctgcgagac 360

gccatggtgc gtgactacgt gcgccagacg tggaagctgg agggcgaggc cctggagcag 420

gccatcatca gccaggcccc gcaagtggag aagctcattg ctacgacggc ccacgagcgg 480

atgccctggt accacagcag cctgacgcgt gaggaggccg agcgcaaact ttactctggg 540

gcgcagaccg acggcaagtt cctgctgagg ccgcggaagg agcagggcac atacgccctg 600

tccctcatct atgggaagac ggtgtaccac tacctcatca gccaagacaa ggcgggcaag 660

tactgcattc ccgagggcac caagtttgac acgctctggc agctggtgga gtatctgaag 720

ctgaaggcgg acgggctcat ctactgcctg aaggaggcct gccccaacag cagtgccagc 780

aacgcctcag gggctgctgc tcccacactc ccagcccacc catccacgtt gactcatcct 840

cagagacgaa tcgacaccct caactcagat ggatacaccc ctgagccagc acgcataacg 900

tccccagaca aaccgcggcc gatgcccatg gacacgagcg tgtatgagag cccctacagc 960

gacccagagg agctcaagga caagaagctc ttcctgaagc gcgataacct cctcatagct 1020

gacattgaac ttggctgcgg caactttggc tcagtgcgcc agggcgtgta ccgcatgcgc 1080

aagaagcaga tcgacgtggc catcaaggtg ctgaagcagg gcacggagaa ggcagacacg 1140

gaagagatga tgcgcgaggc gcagatcatg caccagctgg acaaccccta catcgtgcgg 1200

ctcattggcg tctgccaggc cgaggccctc atgctggtca tggagatggc tgggggcggg 1260

ccgctgcaca agttcctggt cggcaagagg gaggagatcc ctgtgagcaa tgtggccgag 1320

ctgctgcacc aggtgtccat ggggatgaag tacctggagg agaagaactt tgtgcaccgt 1380

gacctggcgg cccgcaacgt cctgctggtt aaccggcact acgccaagat cagcgacttt 1440

ggcctctcca aagcactggg tgccgacgac agctactaca ctgcccgctc agcagggaag 1500

tggccgctca agtggtacgc acccgaatgc atcaacttcc gcaagttctc cagccgcagc 1560

gatgtctgga gctatggggt caccatgtgg gaggccttgt cctacggcca gaagccctac 1620

aagaagatga aagggccgga ggtcatggcc ttcatcgagc agggcaagcg gatggagtgc 1680

ccaccagagt gtccacccga actgtacgca ctcatgagtg actgctggat ctacaagtgg 1740

gaggatcgcc ccgacttcct gaccgtggag cagcgcatgc gagcctgtta ctacagcctg 1800

gccagcaagg tggaagggcc cccaggcagc acacagaagg ctgaggctgc ctgtgcc 1857

<210> 36

<211> 619

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400>

36

Met Pro Asp Pro Ala Ala His Leu Pro Phe Phe Tyr Gly Ser Ile Ser
1 5 10 15

Arg Ala Glu Ala Glu Glu His Leu Lys Leu Ala Gly Met Ala Asp Gly
20 25 30

Leu Phe Leu Leu Arg Gln Cys Leu Arg Ser Leu Gly Gly Tyr Val Leu
35 40 45

Ser Leu Val His Asp Val Arg Phe His His Phe Pro Ile Glu Arg Gln
50 55 60

Leu Asn Gly Thr Tyr Ala Ile Ala Gly Gly Lys Ala His Cys Gly Pro

65 70 75 80

Ala Glu Leu Cys Glu Phe Tyr Ser Arg Asp Pro Asp Gly Leu Pro Cys

85 90 95

Asn Leu Arg Lys Pro Cys Asn Arg Pro Ser Gly Leu Glu Pro Gln Pro

100 105 110

Gly Val Phe Asp Cys Leu Arg Asp Ala Met Val Arg Asp Tyr Val Arg

115 120 125

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

130 135 140

Gln Ala Pro Gln Val Glu Lys Leu Ile Ala Thr Thr Ala His Glu Arg

145 150 155 160

Met Pro Trp Tyr His Ser Ser Leu Thr Arg Glu Glu Ala Glu Arg Lys

165 170 175

Leu Tyr Ser Gly Ala Gln Thr Asp Gly Lys Phe Leu Leu Arg Pro Arg

180 185 190

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

195 200 205

Tyr His Tyr Leu Ile Ser Gln Asp Lys Ala Gly Lys Tyr Cys Ile Pro

210 215 220

Glu Gly Thr Lys Phe Asp Thr Leu Trp Gln Leu Val Glu Tyr Leu Lys

225 230 235 240

Leu Lys Ala Asp Gly Leu Ile Tyr Cys Leu Lys Glu Ala Cys Pro Asn

245 250 255

Ser Ser Ala Ser Asn Ala Ser Gly Ala Ala Ala Pro Thr Leu Pro Ala

260 265 270

His Pro Ser Thr Leu Thr His Pro Gln Arg Arg Ile Asp Thr Leu Asn

275 280 285

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

290 295 300

Pro Arg Pro Met Pro Met Asp Thr Ser Val Tyr Glu Ser Pro Tyr Ser

305 310 315 320

Asp Pro Glu Glu Leu Lys Asp Lys Lys Leu Phe Leu Lys Arg Asp Asn

325 330 335

Leu Leu Ile Ala Asp Ile Glu Leu Gly Cys Gly Asn Phe Gly Ser Val

340 345 350

Arg Gln Gly Val Tyr Arg Met Arg Lys Lys Gln Ile Asp Val Ala Ile

355 360 365

Lys Val Leu Lys Gln Gly Thr Glu Lys Ala Asp Thr Glu Glu Met Met

370 375 380

Arg Glu Ala Gln Ile Met His Gln Leu Asp Asn Pro Tyr Ile Val Arg

385 390 395 400

Leu Ile Gly Val Cys Gln Ala Glu Ala Leu Met Leu Val Met Glu Met

405 410 415

Ala Gly Gly Gly Pro Leu His Lys Phe Leu Val Gly Lys Arg Glu Glu

420 425 430

Ile Pro Val Ser Asn Val Ala Glu Leu Leu His Gln Val Ser Met Gly

435 440 445

Met Lys Tyr Leu Glu Glu Lys Asn Phe Val His Arg Asp Leu Ala Ala

450 455 460

Arg Asn Val Leu Leu Val Asn Arg His Tyr Ala Lys Ile Ser Asp Phe

465 470 475 480

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

485 490 495

Ser Ala Gly Lys Trp Pro Leu Lys Trp Tyr Ala Pro Glu Cys Ile Asn

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

Gly Pro Glu Val Met Ala Phe Ile Glu Gln Gly Lys Arg Met Glu Cys

545 550 555 560

Pro Pro Glu Cys Pro Pro Glu Leu Tyr Ala Leu Met Ser Asp Cys Trp

565 570 575

Ile Tyr Lys Trp Glu Asp Arg Pro Asp Phe Leu Thr Val Glu Gln Arg
580 585 590
Met Arg Ala Cys Tyr Tyr Ser Leu Ala Ser Lys Val Glu Gly Pro Pro
595 600 605
Gly Ser Thr Gln Lys Ala Glu Ala Ala Cys Ala
610 615

<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<220><221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> the amino acids in this region can be repeated n times, where n is an integer of at least one
<400> 37
Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<220><221> REPEAT
<222> (1)..(4)
<223> the amino acids in this region can be repeated n times, where n is an integer of at least one
<400> 38
Gly Gly Gly Ser
1

<210> 39
<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 39

Gly Gly Ser Gly

1

<210> 40

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 40

Gly Gly Ser Gly Gly

1 5

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 41

Gly Ser Gly Ser Gly

1 5

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 42

Gly Ser Gly Gly Gly

1 5

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 43

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 44

Gly Ser Ser Ser Gly

1 5

<210> 45

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 45

Asp Lys Thr His Thr

1 5

<210> 46

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 46

Cys Pro Pro Cys

1

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 47

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg
1 5 10 15

<210> 48

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> synthetic polypeptide

<400> 48

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr
1 5 10

<210> 49

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 49

Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
1 5 10

<210> 50

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 50

Lys Cys Cys Val Asp Cys Pro
1 5

<210> 51

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 51

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 52

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10 15

<210> 53

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> synthetic polypeptide

<400> 53

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5 10

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 54

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

1 5 10 15

Pro

<210> 55

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 55

Ser Pro Asn Met Val Pro His Ala His His Ala Gln

1 5 10

<210> 56

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 56

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp

35 40 45

<210> 57

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 57

Leu Gly Leu Leu Val Ala Gly Val Leu Val Leu Leu Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Val Ala Ile His Leu Cys Cys

20

<210> 58

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 58

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

1 5 10 15

Leu Gly Ile Phe Phe Cys Val Arg Cys

20 25

<210> 59

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 59

Leu Cys Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ala Leu Phe Leu Arg Val

20

<210> 60

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 60

Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu

1 5 10 15

Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 61

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 61

Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val Leu Gly Leu Leu Gly Pro

1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu

20 25

<210> 62

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 62

Ala Leu Pro Ala Ala Leu Ala Val Ile Ser Phe Leu Leu Gly Leu Gly

1 5 10 15

Leu Gly Val Ala Cys Val Leu Ala

20

<210> 63

<211> 44

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 63

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

1 5 10 15

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

20 25 30

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 64

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Met Phe Met Arg Ala Val Asn Thr Ala Lys Lys Ser Arg Leu Thr Asp

20 25 30

Val Thr Leu

35

<210> 65

<211> 37

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 65

Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser
20 25 30

Thr Leu Ala Lys Ile
35

<210> 66

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 66

Cys Cys Leu Arg Arg His Gln Gly Lys Gln Asn Glu Leu Ser Asp Thr
1 5 10 15

Ala Gly Arg Glu Ile Asn Leu Val Asp Ala His Leu Lys Ser Glu Gln
20 25 30

Thr Glu Ala Ser Thr Arg Gln Asn Ser Gln Val Leu Leu Ser Glu Thr
35 40 45

Gly Ile Tyr Asp Asn Asp Pro Asp Leu Cys Phe Arg Met Gln Glu Gly
50 55 60

Ser Glu Val Tyr Ser Asn Pro Cys Leu Glu Glu Asn Lys Pro Gly Ile
65 70 75 80

Val Tyr Ala Ser Leu Asn His Ser Val Ile Gly Pro Asn Ser Arg Leu
85 90 95

Ala Arg Asn Val Lys Glu Ala Pro Thr Glu Tyr Ala Ser Ile Cys Val
100 105 110

Arg Ser

<210> 67

<211> 49

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 67

His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser Pro Val Glu
1 5 10 15

Pro Ala Glu Pro Cys Arg Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu Glu Gly Ser
20 25 30

Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro Ala Cys Ser
35 40 45

Pro

<210> 68

<211> 187

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 68

Arg Arg Ala Cys Arg Lys Arg Ile Arg Gln Lys Leu His Leu Cys Tyr
1 5 10 15

Pro Val Gln Thr Ser Gln Pro Lys Leu Glu Leu Val Asp Ser Arg Pro
20 25 30

Arg Arg Ser Ser Thr Gln Leu Arg Ser Gly Ala Ser Val Thr Glu Pro
35 40 45

Val Ala Glu Glu Arg Gly Leu Met Ser Gln Pro Leu Met Glu Thr Cys

50 55 60

His Ser Val Gly Ala Ala Tyr Leu Glu Ser Leu Pro Leu Gln Asp Ala
65 70 75 80

Ser Pro Ala Gly Gly Pro Ser Ser Pro Arg Asp Leu Pro Glu Pro Arg

85 90 95

Val Ser Thr Glu His Thr Asn Asn Lys Ile Glu Lys Ile Tyr Ile Met

100 105 110

Lys Ala Asp Thr Val Ile Val Gly Thr Val Lys Ala Glu Leu Pro Glu

115 120 125

Gly Arg Gly Leu Ala Gly Pro Ala Glu Pro Glu Leu Glu Glu Glu Leu

130 135 140

Glu Ala Asp His Thr Pro His Tyr Pro Glu Gln Glu Thr Glu Pro Pro

145 150 155 160

Leu Gly Ser Cys Ser Asp Val Met Leu Ser Val Glu Glu Glu Gly Lys

165 170 175

Glu Asp Pro Leu Pro Thr Ala Ala Ser Gly Lys

180 185

<210> 69

<211> 54

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 69

His Ile Trp Gln Leu Arg Ser Gln Cys Met Trp Pro Arg Glu Thr Gln

1 5 10 15

Leu Leu Leu Glu Val Pro Pro Ser Thr Glu Asp Ala Arg Ser Cys Gln

20 25 30

Phe Pro Glu Glu Glu Arg Gly Glu Arg Ser Ala Glu Glu Lys Gly Arg

35 40 45

Leu Gly Asp Leu Trp Val

50

<210> 70

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 70

Cys Val Lys Arg Arg Lys Pro Arg Gly Asp Val Val Lys Val Ile Val
1 5 10 15

Ser Val Gln Arg Lys Arg Gln Glu Ala Glu Gly Glu Ala Thr Val Ile
20 25 30

Glu Ala Leu Gln Ala Pro Pro Asp Val Thr Thr Val Ala Val Glu Glu
35 40 45

Thr Ile Pro Ser Phe Thr Gly Arg Ser Pro Asn His

50 55 60

<210> 71

<211> 292

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 71

Leu Glu Glu Ser Val Ala Leu Arg Ile Ile Thr Glu Gly Ala Ser Ile
1 5 10 15

Leu Arg Gln Glu Lys Asn Leu Leu Asp Ile Asp Ala Pro Val Thr Val
20 25 30

Cys Gly Asp Ile His Gly Gln Phe Phe Asp Leu Met Lys Leu Phe Glu
35 40 45

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

50 55 60

Val Asp Arg Gly Tyr Phe Ser Ile Glu Cys Val Leu Tyr Leu Trp Ala
65 70 75 80

Leu Lys Ile Leu Tyr Pro Lys Thr Leu Phe Leu Leu Arg Gly Asn His
85 90 95

Glu Cys Arg His Leu Thr Glu Tyr Phe Thr Phe Lys Gln Glu Cys Lys
100 105 110

Ile Lys Tyr Ser Glu Arg Val Tyr Asp Ala Cys Met Asp Ala Phe Asp

115 120 125

Cys Leu Pro Leu Ala Ala Leu Met Asn Gln Gln Phe Leu Cys Val His

130 135 140

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

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

260 265 270
Val Met Asn Ile Arg Gln Phe Asn Cys Ser Pro His Pro Tyr Trp Leu
275 280 285
Pro Asn Phe Met
290

<210> 72
<211> 165
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 72
Met Val Asn Pro Thr Val Phe Phe Asp Ile Ala Val Asp Gly Glu Pro
1 5 10 15
Leu Gly Arg Val Ser Phe Glu Leu Phe Ala Asp Lys Val Pro Lys Thr

20 25 30
Ala Glu Asn Phe Arg Ala Leu Ser Thr Gly Glu Lys Gly Phe Gly Tyr

35 40 45

Lys Gly Ser Cys Phe His Arg Ile Ile Pro Gly Phe Met Cys Gln Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys Phe Glu Asp Glu Asn Phe Ile Leu Lys His Thr Gly Pro Gly

85 90 95

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

100 105 110

Phe Ile Cys Thr Ala Lys Thr Glu Trp Leu Asp Gly Lys His Val Val

115 120 125

Phe Gly Lys Val Lys Glu Gly Met Asn Ile Val Glu Ala Met Glu Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Cys Gly Gln Leu Glu

165

<210> 73

<211> 804

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 73

Met Ser Asn Ser Tyr Asp Ser Ser Ser Ile Lys Val Leu Lys Gly Leu

1 5 10 15

Asp Ala Val Arg Lys Arg Pro Gly Met Tyr Ile Gly Asp Thr Asp Asp

20 25 30

Gly Thr Gly Leu His His Met Val Phe Glu Val Val Asp Asn Ala Ile

35 40 45

Asp Glu Ala Leu Ala Gly His Cys Lys Glu Ile Ile Val Thr Ile His

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Ile His Pro Glu Glu Gly Val Ser Ala Ala Glu Val Ile Met Thr

85 90 95

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

100 105 110

Gly Gly Leu His Gly Val Gly Val Ser Val Val Asn Ala Leu Ser Gln

115 120 125

Lys Leu Glu Leu Val Ile Gln Arg Glu Gly Lys Ile His Arg Gln Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

Glu Lys Thr Gly Thr Met Val Arg Phe Trp Pro Ser Leu Glu Thr Phe

165 170 175

Thr Asn Val Thr Glu Phe Glu Tyr Glu Ile Leu Ala Lys Arg Leu Arg

180 185 190

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

195 200 205

Arg Asp Gly Lys Glu Asp His Phe His Tyr Glu Gly Gly Ile Lys Ala

210 215 220

Phe Val Glu Tyr Leu Asn Lys Asn Lys Thr Pro Ile His Pro Asn Ile

225 230 235 240

Phe Tyr Phe Ser Thr Glu Lys Asp Gly Ile Gly Val Glu Val Ala Leu

245 250 255

Gln Trp Asn Asp Gly Phe Gln Glu Asn Ile Tyr Cys Phe Thr Asn Asn

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Lys Ala Lys Val Ser Ala Thr Gly Asp Asp Ala Arg Glu Gly Leu Ile

305 310 315 320

Ala Val Val Ser Val Lys Val Pro Asp Pro Lys Phe Ser Ser Gln Thr

325 330 335

Lys Asp Lys Leu Val Ser Ser Glu Val Lys Ser Ala Val Glu Gln Gln
340 345 350
Met Asn Glu Leu Leu Ala Glu Tyr Leu Leu Glu Asn Pro Thr Asp Ala
355 360 365
Lys Ile Val Val Gly Lys Ile Ile Asp Ala Ala Arg Ala Arg Glu Ala
370 375 380
Ala Arg Arg Ala Arg Glu Met Thr Arg Arg Lys Gly Ala Leu Asp Leu
385 390 395 400
Ala Gly Leu Pro Gly Lys Leu Ala Asp Cys Gln Glu Arg Asp Pro Ala

405 410 415
Leu Ser Glu Leu Tyr Leu Val Glu Gly Asp Ser Ala Gly Gly Ser Ala
420 425 430
Lys Gln Gly Arg Asn Arg Lys Asn Gln Ala Ile Leu Pro Leu Lys Gly
435 440 445
Lys Ile Leu Asn Val Glu Lys Ala Arg Phe Asp Lys Met Leu Ser Ser
450 455 460
Gln Glu Val Ala Thr Leu Ile Thr Ala Leu Gly Cys Gly Ile Gly Arg
465 470 475 480

Asp Glu Tyr Asn Pro Asp Lys Leu Arg Tyr His Ser Ile Ile Ile Met
485 490 495
Thr Asp Ala Asp Val Asp Gly Ser His Ile Arg Thr Leu Leu Leu Thr
500 505 510
Phe Phe Tyr Arg Gln Met Pro Glu Ile Val Glu Arg Gly His Val Tyr
515 520 525
Ile Ala Gln Pro Pro Leu Tyr Lys Val Lys Lys Gly Lys Gln Glu Gln
530 535 540
Tyr Ile Lys Asp Asp Glu Ala Met Asp Gln Tyr Gln Ile Ser Ile Ala

545 550 555 560
Leu Asp Gly Ala Thr Leu His Thr Asn Ala Ser Ala Pro Ala Leu Ala
565 570 575

Gly Glu Ala Leu Glu Lys Leu Val Ser Glu Tyr Asn Ala Thr Gln Lys
580 585 590
Met Ile Asn Arg Met Glu Arg Arg Tyr Pro Lys Ala Met Leu Lys Glu
595 600 605
Leu Ile Tyr Gln Pro Thr Leu Thr Glu Ala Asp Leu Ser Asp Glu Gln
610 615 620

Thr Val Thr Arg Trp Val Asn Ala Leu Val Ser Glu Leu Asn Asp Lys
625 630 635 640
Glu Gln His Gly Ser Gln Trp Lys Phe Asp Val His Thr Asn Ala Glu
645 650 655
Gln Asn Leu Phe Glu Pro Ile Val Arg Val Arg Thr His Gly Val Asp
660 665 670
Thr Asp Tyr Pro Leu Asp His Glu Phe Ile Thr Gly Gly Glu Tyr Arg
675 680 685
Arg Ile Cys Thr Leu Gly Glu Lys Leu Arg Gly Leu Leu Glu Glu Asp

690 695 700
Ala Phe Ile Glu Arg Gly Glu Arg Arg Gln Pro Val Ala Ser Phe Glu
705 710 715 720
Gln Ala Leu Asp Trp Leu Val Lys Glu Ser Arg Arg Gly Leu Ser Ile
725 730 735
Gln Arg Tyr Lys Gly Leu Gly Glu Met Asn Pro Glu Gln Leu Trp Glu
740 745 750
Thr Thr Met Asp Pro Glu Ser Arg Arg Met Leu Arg Val Thr Val Lys
755 760 765

Asp Ala Ile Ala Ala Asp Gln Leu Phe Thr Thr Leu Met Gly Asp Ala
770 775 780
Val Glu Pro Arg Arg Ala Phe Ile Glu Glu Asn Ala Leu Lys Ala Ala
785 790 795 800
Asn Ile Asp Ile

<210> 74
<211> 187

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 74

Met Val Gly Ser Leu Asn Cys Ile Val Ala Val Ser Gln Asn Met Gly
1 5 10 15

Ile Gly Lys Asn Gly Asp Leu Pro Trp Pro Pro Leu Arg Asn Glu Phe
20 25 30

Arg Tyr Phe Gln Arg Met Thr Thr Thr Ser Ser Val Glu Gly Lys Gln
35 40 45

Asn Leu Val Ile Met Gly Lys Lys Thr Trp Phe Ser Ile Pro Glu Lys
50 55 60

Asn Arg Pro Leu Lys Gly Arg Ile Asn Leu Val Leu Ser Arg Glu Leu
65 70 75 80

Lys Glu Pro Pro Gln Gly Ala His Phe Leu Ser Arg Ser Leu Asp Asp
85 90 95

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

Val Trp Ile Val Gly Gly Ser Ser Val Tyr Lys Glu Ala Met Asn His
115 120 125

Pro Gly His Leu Lys Leu Phe Val Thr Arg Ile Met Gln Asp Phe Glu
130 135 140

Ser Asp Thr Phe Phe Pro Glu Ile Asp Leu Glu Lys Tyr Lys Leu Leu
145 150 155 160

Pro Glu Tyr Pro Gly Val Leu Ser Asp Val Gln Glu Glu Lys Gly Ile
165 170 175

Lys Tyr Lys Phe Glu Val Tyr Glu Lys Asn Asp
180 185

<210> 75

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 75

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

Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly
20 25 30

Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Val Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys
35 40 45

Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu
50 55 60

Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro
85 90 95

Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu
100 105 110

<210> 76

<211> 183

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 76

Met Asn Gly Asp Glu Thr Lys Lys Val Glu Ser Glu Tyr Ile Lys Lys
1 5 10 15

His His Arg His Glu Leu Val Glu Ser Gln Cys Ser Ser Thr Leu Val
20 25 30

Lys His Ile Lys Ala Pro Leu His Leu Val Trp Ser Ile Val Arg Arg
35 40 45

Phe Asp Glu Pro Gln Lys Tyr Lys Pro Phe Ile Ser Arg Cys Val Val
50 55 60

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

Ser Gly Leu Pro Ala Thr Lys Ser Thr Glu Val Leu Glu Ile Leu Asp
85 90 95
Asp Asn Glu His Ile Leu Gly Ile Arg Ile Val Gly Gly Asp His Arg
100 105 110

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

180

<210> 77
<211> 161
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 77
Met Glu Thr Ser Gln Lys Tyr His Thr Cys Gly Ser Thr Leu Val Gln
1 5 10 15
Thr Ile Asp Ala Pro Leu Ser Leu Val Trp Ser Ile Leu Arg Arg Phe
20 25 30
Asp Asn Pro Gln Ala Tyr Lys Gln Phe Val Lys Thr Cys Asn Leu Ser
35 40 45

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

Val Asn Tyr Arg Ser Lys Thr Met Ala Phe Val Ala Ala Asp Thr Glu
100 105 110
Glu Lys Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Glu Gly

115 120 125
Asn Ser Glu Glu Glu Thr Thr Ser Phe Ala Asp Thr Ile Val Gly Phe
130 135 140
Asn Leu Lys Ser Leu Ala Lys Leu Ser Glu Arg Val Ala His Leu Lys
145 150 155 160
Leu

<210> 78
<211> 159
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 78
Met Lys Thr Ser Gln Glu Gln His Val Cys Gly Ser Thr Val Val Gln
1 5 10 15

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

85 90 95
Val Asn Tyr Gln Ser Lys Thr Thr Val Phe Val Ala Ala Glu Glu Glu
100 105 110
Lys Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Glu Gly Asn
115 120 125

Thr Glu Glu Glu Thr Thr Leu Phe Ala Asp Thr Ile Val Gly Cys Asn
130 135 140
Leu Arg Ser Leu Ala Lys Leu Ser Glu Lys Met Met Glu Leu Thr
145 150 155

<210> 79
<211> 164
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 79
Met Glu Ser Ser Lys Gln Lys Arg Cys Arg Ser Ser Val Val Glu Thr
1 5 10 15
Ile Glu Ala Pro Leu Pro Leu Val Trp Ser Ile Leu Arg Ser Phe Asp
20 25 30
Lys Pro Gln Ala Tyr Gln Arg Phe Val Lys Ser Cys Thr Met Arg Ser
35 40 45
Gly Gly Gly Gly Gly Lys Gly Gly Glu Gly Lys Gly Ser Val Arg Asp

50 55 60
Val Thr Leu Val Ser Gly Phe Pro Ala Asp Phe Ser Thr Glu Arg Leu
65 70 75 80
Glu Glu Leu Asp Asp Glu Ser His Val Met Val Val Ser Ile Ile Gly
85 90 95
Gly Asn His Arg Leu Val Asn Tyr Lys Ser Lys Thr Lys Val Val Ala
100 105 110
Ser Pro Glu Asp Met Ala Lys Lys Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Val
115 120 125

Val Asp Val Pro Glu Gly Thr Ser Glu Glu Asp Thr Ile Phe Phe Val
130 135 140
Asp Asn Ile Ile Arg Tyr Asn Leu Thr Ser Leu Ala Lys Leu Thr Lys
145 150 155 160
Lys Met Met Lys

<210> 80

<211> 221

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 80

Met Ala Asn Ser Glu Ser Ser Ser Ser Pro Val Asn Glu Glu Glu Asn
1 5 10 15

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

Thr Gln Asp Glu Phe Thr Gln Leu Ser Gln Ser Ile Ala Glu Phe His
35 40 45

Thr Tyr Gln Leu Gly Asn Gly Arg Cys Ser Ser Leu Leu Ala Gln Arg
50 55 60

Ile His Ala Pro Pro Glu Thr Val Trp Ser Val Val Arg Arg Phe Asp
65 70 75 80

Arg Pro Gln Ile Tyr Lys His Phe Ile Lys Ser Cys Asn Val Ser Glu
85 90 95

Asp Phe Glu Met Arg Val Gly Cys Thr Arg Asp Val Asn Val Ile Ser
100 105 110

Gly Leu Pro Ala Asn Thr Ser Arg Glu Arg Leu Asp Leu Leu Asp Asp
115 120 125

Asp Arg Arg Val Thr Gly Phe Ser Ile Thr Gly Gly Glu His Arg Leu
130 135 140

Arg Asn Tyr Lys Ser Val Thr Thr Val His Arg Phe Glu Lys Glu Glu
145 150 155 160

Glu Glu Glu Arg Ile Trp Thr Val Val Leu Glu Ser Tyr Val Val Asp
165 170 175

Val Pro Glu Gly Asn Ser Glu Glu Asp Thr Arg Leu Phe Ala Asp Thr
180 185 190

Val Ile Arg Leu Asn Leu Gln Lys Leu Ala Ser Ile Thr Glu Ala Met
195 200 205

Asn Arg Asn Asn Asn Asn Asn Asn Ser Ser Gln Val Arg

210 215 220

<210> 81

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 81

Met Ser Ser Ser Pro Ala Val Lys Gly Leu Thr Asp Glu Glu Gln Lys

1 5 10 15

Thr Leu Glu Pro Val Ile Lys Thr Tyr His Gln Phe Glu Pro Asp Pro

20 25 30

Thr Thr Cys Thr Ser Leu Ile Thr Gln Arg Ile His Ala Pro Ala Ser

35 40 45

Val Val Trp Pro Leu Ile Arg Arg Phe Asp Asn Pro Glu Arg Tyr Lys

50 55 60

His Phe Val Lys Arg Cys Arg Leu Ile Ser Gly Asp Gly Asp Val Gly

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Glu Arg Leu Glu Phe Val Asp Asp Asp His Arg Val Leu Ser Phe

100 105 110

Arg Val Val Gly Gly Glu His Arg Leu Lys Asn Tyr Lys Ser Val Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Asp Thr Lys Met Phe Val Asp Thr Val Val Lys Leu Asn Leu Gln Lys

165 170 175

Leu Gly Val Ala Ala Thr Ser Ala Pro Met His Asp Asp Glu

180 185 190

<210> 82

<211> 209

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 82

Met Asn Leu Ala Pro Ile His Asp Pro Ser Ser Ser Ser Thr Thr Thr
1 5 10 15

Thr Ser Ser Ser Thr Pro Tyr Gly Leu Thr Lys Asp Glu Phe Ser Thr
20 25 30

Leu Asp Ser Ile Ile Arg Thr His His Thr Phe Pro Arg Ser Pro Asn
35 40 45

Thr Cys Thr Ser Leu Ile Ala His Arg Val Asp Ala Pro Ala His Ala

50 55 60

Ile Trp Arg Phe Val Arg Asp Phe Ala Asn Pro Asn Lys Tyr Lys His
65 70 75 80

Phe Ile Lys Ser Cys Thr Ile Arg Val Asn Gly Asn Gly Ile Lys Glu
85 90 95

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

Ala Ser Thr Ser Val Glu Ile Leu Glu Val Leu Asp Glu Glu Lys Arg
115 120 125

Ile Leu Ser Phe Arg Val Leu Gly Gly Glu His Arg Leu Asn Asn Tyr
130 135 140

Arg Ser Val Thr Ser Val Asn Glu Phe Val Val Leu Glu Lys Asp Lys
145 150 155 160

Lys Lys Arg Val Tyr Ser Val Val Leu Glu Ser Tyr Ile Val Asp Ile
165 170 175

Pro Gln Gly Asn Thr Glu Glu Asp Thr Arg Met Phe Val Asp Thr Val
180 185 190

Val Lys Ser Asn Leu Gln Asn Leu Ala Val Ile Ser Thr Ala Ser Pro

195 200 205

Thr

<210> 83

<211> 207

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 83

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

Val Gln Ile Pro Met Met Ile Ala Ser Phe Gln Lys Arg Phe Pro Ser
20 25 30

Leu Ser Arg Asp Ser Thr Ala Ala Arg Phe His Thr His Glu Val Gly
35 40 45

Pro Asn Gln Cys Cys Ser Ala Val Ile Gln Glu Ile Ser Ala Pro Ile
50 55 60

Ser Thr Val Trp Ser Val Val Arg Arg Phe Asp Asn Pro Gln Ala Tyr
65 70 75 80

Lys His Phe Leu Lys Ser Cys Ser Val Ile Gly Gly Asp Gly Asp Asn
85 90 95

Val Gly Ser Leu Arg Gln Val His Val Val Ser Gly Leu Pro Ala Ala
100 105 110

Ser Ser Thr Glu Arg Leu Asp Ile Leu Asp Asp Glu Arg His Val Ile

115 120 125

Ser Phe Ser Val Val Gly Gly Asp His Arg Leu Ser Asn Tyr Arg Ser
130 135 140

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

Ser Tyr Val Val Asp Val Pro Pro Gly Asn Thr Lys Glu Glu Thr Cys
165 170 175

Asp Phe Val Asp Val Ile Val Arg Cys Asn Leu Gln Ser Leu Ala Lys

180 185 190

Ile Ala Glu Asn Thr Ala Ala Glu Ser Lys Lys Lys Met Ser Leu
195 200 205

<210> 84

<211> 203

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 84

Met Arg Ser Pro Val Gln Leu Gln His Gly Ser Asp Ala Thr Asn Gly
1 5 10 15

Phe His Thr Leu Gln Pro His Asp Gln Thr Asp Gly Pro Ile Lys Arg
20 25 30

Val Cys Leu Thr Arg Gly Met His Val Pro Glu His Val Ala Met His

35 40 45

His Thr His Asp Val Gly Pro Asp Gln Cys Cys Ser Ser Val Val Gln
50 55 60

Met Ile His Ala Pro Pro Glu Ser Val Trp Ala Leu Val Arg Arg Phe
65 70 75 80

Asp Asn Pro Lys Val Tyr Lys Asn Phe Ile Arg Gln Cys Arg Ile Val
85 90 95

Gln Gly Asp Gly Leu His Val Gly Asp Leu Arg Glu Val Met Val Val
100 105 110

Ser Gly Leu Pro Ala Val Ser Ser Thr Glu Arg Leu Glu Ile Leu Asp
115 120 125

Glu Glu Arg His Val Ile Ser Phe Ser Val Val Gly Gly Asp His Arg
130 135 140

Leu Lys Asn Tyr Arg Ser Val Thr Thr Leu His Ala Ser Asp Asp Glu
145 150 155 160

Gly Thr Val Val Val Glu Ser Tyr Ile Val Asp Val Pro Pro Gly Asn
165 170 175

Thr Glu Glu Glu Thr Leu Ser Phe Val Asp Thr Ile Val Arg Cys Asn

180 185 190

Leu Gln Ser Leu Ala Arg Ser Thr Asn Arg Gln

195 200

<210> 85

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 85

Met Pro Thr Ser Ile Gln Phe Gln Arg Ser Ser Thr Ala Ala Glu Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Lys Val Ser Leu Thr Arg Gly Met Ala Asp Val Pro Glu His Val

35 40 45

Glu Leu Ser His Thr His Val Val Gly Pro Ser Gln Cys Phe Ser Val

50 55 60

Val Val Gln Asp Val Glu Ala Pro Val Ser Thr Val Trp Ser Ile Leu

65 70 75 80

Ser Arg Phe Glu His Pro Gln Ala Tyr Lys His Phe Val Lys Ser Cys

85 90 95

His Val Val Ile Gly Asp Gly Arg Glu Val Gly Ser Val Arg Glu Val

100 105 110

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

115 120 125

Ile Met Asp Asp Asp Arg His Val Ile Ser Phe Ser Val Val Gly Gly

130 135 140

Asp His Arg Leu Met Asn Tyr Lys Ser Val Thr Thr Val His Glu Ser

145 150 155 160

Glu Glu Asp Ser Asp Gly Lys Lys Arg Thr Arg Val Val Glu Ser Tyr

165 170 175

Val Val Asp Val Pro Ala Gly Asn Asp Lys Glu Glu Thr Cys Ser Phe
180 185 190
Ala Asp Thr Ile Val Arg Cys Asn Leu Gln Ser Leu Ala Lys Leu Ala
195 200 205
Glu Asn Thr Ser Lys Phe Ser
210 215

<210> 86
<211> 211
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 86

Met Glu Met Ile Gly Gly Asp Asp Thr Asp Thr Glu Met Tyr Gly Ala
1 5 10 15

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

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

145 150 155 160

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

<210> 87
<211> 188
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide

<400> 87
Met Glu Ala Asn Gly Ile Glu Asn Leu Thr Asn Pro Asn Gln Glu Arg
1 5 10 15
Glu Phe Ile Arg Arg His His Lys His Glu Leu Val Asp Asn Gln Cys
20 25 30
Ser Ser Thr Leu Val Lys His Ile Asn Ala Pro Val His Ile Val Trp
35 40 45
Ser Leu Val Arg Arg Phe Asp Gln Pro Gln Lys Tyr Lys Pro Phe Ile
50 55 60
Ser Arg Cys Val Val Lys Gly Asn Met Glu Ile Gly Thr Val Arg Glu

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

130 135 140

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

<210> 88
<211> 187
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 88
Met Met Asp Gly Val Glu Gly Gly Thr Ala Met Tyr Gly Gly Leu Glu
1 5 10 15
Thr Val Gln Tyr Val Arg Thr His His Gln His Leu Cys Arg Glu Asn
20 25 30
Gln Cys Thr Ser Ala Leu Val Lys His Ile Lys Ala Pro Leu His Leu
35 40 45
Val Trp Ser Leu Val Arg Arg Phe Asp Gln Pro Gln Lys Tyr Lys Pro
50 55 60
Phe Val Ser Arg Cys Thr Val Ile Gly Asp Pro Glu Ile Gly Ser Leu
65 70 75 80

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

Phe Val Val Asp Val Pro Gln Gly Asn Thr Lys Asp Glu Thr Cys Tyr

145 150 155 160

Phe Val Glu Ala Leu Ile Arg Cys Asn Leu Lys Ser Leu Ala Asp Val

165 170 175

Ser Glu Arg Leu Ala Ser Gln Asp Ile Thr Gln

180 185

<210> 89

<211> 191

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 89

Met Pro Ser Glu Leu Thr Pro Glu Glu Arg Ser Glu Leu Lys Asn Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu His Ala Gln Arg Ile His Ala Pro Pro Glu Leu Val Trp Ser Ile

35 40 45

Val Arg Arg Phe Asp Lys Pro Gln Thr Tyr Lys His Phe Ile Lys Ser

50 55 60

Cys Ser Val Glu Gln Asn Phe Glu Met Arg Val Gly Cys Thr Arg Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Glu His Arg Leu Thr Asn Tyr Lys Ser Val Thr Thr Val His Arg

115 120 125

Phe Glu Lys Glu Asn Arg Ile Trp Thr Val Val Leu Glu Ser Tyr Val

130 135 140

Val Asp Met Pro Glu Gly Asn Ser Glu Asp Asp Thr Arg Met Phe Ala

145 150 155 160

Asp Thr Val Val Lys Leu Asn Leu Gln Lys Leu Ala Thr Val Ala Glu
165 170 175
Ala Met Ala Arg Asn Ser Gly Asp Gly Ser Gly Ser Gln Val Thr
180 185 190

<210> 90
<211> 434
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 90

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

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

Asp Gly Arg Phe Asp Pro Gln Ser Ala Ala His Phe Phe Gly Val Tyr

165 170 175

Asp Gly His Gly Gly Ser Gln Val Ala Asn Tyr Cys Arg Glu Arg Met

180 185 190

His Leu Ala Leu Ala Glu Glu Ile Ala Lys Glu Lys Pro Met Leu Cys

195 200 205

Asp Gly Asp Thr Trp Leu Glu Lys Trp Lys Lys Ala Leu Phe Asn Ser

210 215 220

Phe Leu Arg Val Asp Ser Glu Ile Glu Ser Val Ala Pro Glu Thr Val

225 230 235 240

Gly Ser Thr Ser Val Val Ala Val Val Phe Pro Ser His Ile Phe Val

245 250 255

Ala Asn Cys Gly Asp Ser Arg Ala Val Leu Cys Arg Gly Lys Thr Ala

260 265 270

Leu Pro Leu Ser Val Asp His Lys Pro Asp Arg Glu Asp Glu Ala Ala

275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Gly Val Leu Ala Met Ser Arg Ser Ile Gly Asp Arg Tyr Leu

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Glu Asp Asp Cys Leu Ile Leu Ala Ser Asp Gly Val Trp Asp Val

340 345 350

Met Thr Asp Glu Glu Ala Cys Glu Met Ala Arg Lys Arg Ile Leu Leu

355 360 365

Trp His Lys Lys Asn Ala Val Ala Gly Asp Ala Ser Leu Leu Ala Asp

370 375 380

Glu Arg Arg Lys Glu Gly Lys Asp Pro Ala Ala Met Ser Ala Ala Glu

385 390 395 400

Tyr Leu Ser Lys Leu Ala Ile Gln Arg Gly Ser Lys Asp Asn Ile Ser

405 410 415

Val Val Val Val Asp Leu Lys Pro Arg Arg Lys Leu Lys Ser Lys Pro

420 425 430

Leu Asn

<210> 91

<211> 423

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 91

Met Asp Glu Val Ser Pro Ala Val Ala Val Pro Phe Arg Pro Phe Thr

1 5 10 15

Asp Pro His Ala Gly Leu Arg Gly Tyr Cys Asn Gly Glu Ser Arg Val

20 25 30

Thr Leu Pro Glu Ser Ser Cys Ser Gly Asp Gly Ala Met Lys Asp Ser

35 40 45

Ser Phe Glu Ile Asn Thr Arg Gln Asp Ser Leu Thr Ser Ser Ser Ser

50 55 60

Ala Met Ala Gly Val Asp Ile Ser Ala Gly Asp Glu Ile Asn Gly Ser

65 70 75 80

Asp Glu Phe Asp Pro Arg Ser Met Asn Gln Ser Glu Lys Lys Val Leu

85 90 95

Ser Arg Thr Glu Ser Arg Ser Leu Phe Glu Phe Lys Cys Val Pro Leu

100 105 110

Tyr Gly Val Thr Ser Ile Cys Gly Arg Arg Pro Glu Met Glu Asp Ser

115 120 125

Val Ser Thr Ile Pro Arg Phe Leu Gln Val Ser Ser Ser Ser Leu Leu

130 135 140

Asp Gly Arg Val Thr Asn Gly Phe Asn Pro His Leu Ser Ala His Phe

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Glu Arg Met His Leu Ala Leu Thr Glu Glu Ile Val Lys Glu Lys

180 185 190

Pro Glu Phe Cys Asp Gly Asp Thr Trp Gln Glu Lys Trp Lys Lys Ala

195 200 205

Leu Phe Asn Ser Phe Met Arg Val Asp Ser Glu Ile Glu Thr Val Ala

210 215 220

His Ala Pro Glu Thr Val Gly Ser Thr Ser Val Val Ala Val Val Phe

225 230 235 240

Pro Thr His Ile Phe Val Ala Asn Cys Gly Asp Ser Arg Ala Val Leu

245 250 255

Cys Arg Gly Lys Thr Pro Leu Ala Leu Ser Val Asp His Lys Pro Asp

260 265 270

Arg Asp Asp Glu Ala Ala Arg Ile Glu Ala Ala Gly Gly Lys Val Ile

275 280 285

Arg Trp Asn Gly Ala Arg Val Phe Gly Val Leu Ala Met Ser Arg Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

Thr Ser Val Arg Arg Val Lys Glu Asp Asp Cys Leu Ile Leu Ala Ser

325 330 335

Asp Gly Leu Trp Asp Val Met Thr Asn Glu Glu Val Cys Asp Leu Ala

340 345 350

Arg Lys Arg Ile Leu Leu Trp His Lys Lys Asn Ala Met Ala Gly Glu

355 360 365

Ala Leu Leu Pro Ala Glu Lys Arg Gly Glu Gly Lys Asp Pro Ala Ala

370 375 380

Met Ser Ala Ala Glu Tyr Leu Ser Lys Met Ala Leu Gln Lys Gly Ser

385 390 395 400

Lys Asp Asn Ile Ser Val Val Val Val Asp Leu Lys Gly Ile Arg Lys

405 410 415

Phe Lys Ser Lys Ser Leu Asn

420

<210> 92

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 92

Met Lys Met Asp Lys Lys Thr Ile Val Trp Phe Arg Arg Asp Leu Arg
1 5 10 15

Ile Glu Asp Asn Pro Ala Leu Ala Ala Ala Ala His Glu Gly Ser Val
20 25 30

Phe Pro Val Phe Ile Trp Cys Pro Glu Glu Glu Gly Gln Phe Tyr Pro
35 40 45

Gly Arg Ala Ser Arg Trp Trp Met Lys Gln Ser Leu Ala His Leu Ser

50 55 60

Gln Ser Leu Lys Ala Leu Gly Ser Asp Leu Thr Leu Ile Lys Thr His
65 70 75 80

Asn Thr Ile Ser Ala Ile Leu Asp Cys Ile Arg Val Thr Gly Ala Thr
85 90 95

Lys Val Val Phe Asn His Leu Tyr Asp Pro Val Ser Leu Val Arg Asp
100 105 110

His Thr Val Lys Glu Lys Leu Val Glu Arg Gly Ile Ser Val Gln Ser
115 120 125

Tyr Asn Gly Asp Leu Leu Tyr Glu Pro Trp Glu Ile Tyr Cys Glu Lys
130 135 140

Gly Lys Pro Phe Thr Ser Phe Asn Ser Tyr Trp Lys Lys Cys Leu Asp
145 150 155 160

Met Ser Ile Glu Ser Val Met Leu Pro Pro Pro Trp Arg Leu Met Pro
165 170 175

Ile Thr Ala Ala Ala Glu Ala Ile Trp Ala Cys Ser Ile Glu Glu Leu
180 185 190

Gly Leu Glu Asn Glu Ala Glu Lys Pro Ser Asn Ala Leu Leu Thr Arg

195 200 205

Ala Trp Ser Pro Gly Trp Ser Asn Ala Asp Lys Leu Leu Asn Glu Phe

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Asn Ser Thr Ser Leu Leu Ser Pro Tyr Leu His Phe Gly Glu Ile

245 250 255

Ser Val Arg His Val Phe Gln Cys Ala Arg Met Lys Gln Ile Ile Trp

260 265 270

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

275 280 285

Arg Gly Ile Gly Leu Arg Glu Tyr Ser Arg Tyr Ile Cys Phe Asn Phe

290 295 300

Pro Phe Thr His Glu Gln Ser Leu Leu Ser His Leu Arg Phe Phe Pro

305 310 315 320

Trp Asp Ala Asp Val Asp Lys Phe Lys Ala Trp Arg Gln Gly Arg Thr

325 330 335

Gly Tyr Pro Leu Val Asp Ala Gly Met Arg Glu Leu Trp Ala Thr Gly

340 345 350

Trp Met His Asn Arg Ile Arg Val Ile Val Ser Ser Phe Ala Val Lys

355 360 365

Phe Leu Leu Leu Pro Trp Lys Trp Gly Met Lys Tyr Phe Trp Asp Thr

370 375 380

Leu Leu Asp Ala Asp Leu Glu Cys Asp Ile Leu Gly Trp Gln Tyr Ile

385 390 395 400

Ser Gly Ser Ile Pro Asp Gly His Glu Leu Asp Arg Leu Asp Asn Pro

405 410 415

Ala Leu Gln Gly Ala Lys Tyr Asp Pro Glu Gly Glu Tyr Ile Arg Gln

420 425 430

Trp Leu Pro Glu Leu Ala Arg Leu Pro Thr Glu Trp Ile His His Pro

435 440 445

Trp Asp Ala Pro Leu Thr Val Leu Lys Ala Ser Gly Val Glu Leu Gly

450 455 460

Thr Asn Tyr Ala Lys Pro Ile Val Asp Ile Asp Thr Ala Arg Glu Leu

465 470 475 480

Leu Ala Lys Ala Ile Ser Arg Thr Arg Glu Ala Gln Ile Met Ile Gly

485 490 495

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

500 505 510

Asn Thr Ile Lys Glu Pro Gly Leu Cys Pro Ser Val Ser Ser Asn Asp

515 520 525

Gln Gln Val Pro Ser Ala Val Arg Tyr Asn Gly Ser Lys Arg Val Lys

530 535 540

Pro Glu Glu Glu Glu Glu Arg Asp Met Lys Lys Ser Arg Gly Phe Asp

545 550 555 560

Glu Arg Glu Leu Phe Ser Thr Ala Glu Ser Ser Ser Ser Ser Ser Val

565 570 575

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

580 585 590

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

595 600 605

Asn Gly Cys Lys

610

<210> 93

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 93

Met Asn Gly Ala Ile Gly Gly Asp Leu Leu Leu Asn Phe Pro Asp Met

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Met Met Tyr Gly Glu Thr Thr Val Glu Gly Asp Ser Arg Leu Ser Ile

65 70 75 80

Ser Pro Glu Thr Thr Leu Gly Thr Gly Asn Phe Lys Lys Arg Lys Phe

85 90 95

Asp Thr Glu Thr Lys Asp Cys Asn Glu Lys Lys Lys Lys Met Thr Met

100 105 110

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

115 120 125

Thr Glu Gln Asn Asn Gly Ser Thr Lys Ser Ile Lys Lys Met Lys His

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Lys Glu Leu Glu Lys Thr Asp Tyr Ile His Val Arg Ala Arg Arg

165 170 175

Gly Gln Ala Thr Asp Ser His Ser Ile Ala Glu Arg Val Arg Arg Glu

180 185 190

Lys Ile Ser Glu Arg Met Lys Phe Leu Gln Asp Leu Val Pro Gly Cys

195 200 205

Asp Lys Ile Thr Gly Lys Ala Gly Met Leu Asp Glu Ile Ile Asn Tyr

210 215 220

Val Gln Ser Leu Gln Arg Gln Ile Glu Phe Leu Ser Met Lys Leu Ala

225 230 235 240

Ile Val Asn Pro Arg Pro Asp Phe Asp Met Asp Asp Ile Phe Ala Lys

245 250 255

Glu Val Ala Ser Thr Pro Met Thr Val Val Pro Ser Pro Glu Met Val

260 265 270

Leu Ser Gly Tyr Ser His Glu Met Val His Ser Gly Tyr Ser Ser Glu

275 280 285

Met Val Asn Ser Gly Tyr Leu His Val Asn Pro Met Gln Gln Val Asn
290 295 300
Thr Ser Ser Asp Pro Leu Ser Cys Phe Asn Asn Gly Glu Ala Pro Ser
305 310 315 320
Met Trp Asp Ser His Val Gln Asn Leu Tyr Gly Asn Leu Gly Val
325 330 335

<210> 94
<211> 533
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 94

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

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

```
Glu Thr Thr Thr Ala Thr Ala Glu Ser Thr Arg His Val Val Leu Val

145                 150                 155                 160
Asp Ser Gln Glu Asn Gly Val Arg Leu Val His Ala Leu Leu Ala Cys
                165                 170                 175
Ala Glu Ala Val Gln Lys Glu Asn Leu Thr Val Ala Glu Ala Leu Val
            180                 185                 190
Lys Gln Ile Gly Phe Leu Ala Val Ser Gln Ile Gly Ala Met Arg Lys
        195                 200                 205
Val Ala Thr Tyr Phe Ala Glu Ala Leu Ala Arg Arg Ile Tyr Arg Leu
    210                 215                 220

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

    290                 295                 300
Gly Ile Gly Pro Pro Ala Pro Asp Asn Phe Asp Tyr Leu His Glu Val
305                 310                 315                 320
Gly Cys Lys Leu Ala His Leu Ala Glu Ala Ile His Val Glu Phe Glu
                325                 330                 335
Tyr Arg Gly Phe Val Ala Asn Thr Leu Ala Asp Leu Asp Ala Ser Met
            340                 345                 350
Leu Glu Leu Arg Pro Ser Glu Ile Glu Ser Val Ala Val Asn Ser Val
        355                 360                 365

Phe Glu Leu His Lys Leu Leu Gly Arg Pro Gly Ala Ile Asp Lys Val
    370                 375                 380
Leu Gly Val Val Asn Gln Ile Lys Pro Glu Ile Phe Thr Val Val Glu
```

385 390 395 400

Gln Glu Ser Asn His Asn Ser Pro Ile Phe Leu Asp Arg Phe Thr Glu

405 410 415

Ser Leu His Tyr Tyr Ser Thr Leu Phe Asp Ser Leu Glu Gly Val Pro

420 425 430

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

435 440 445

Cys Asn Val Val Ala Cys Asp Gly Pro Asp Arg Val Glu Arg His Glu

450 455 460

Thr Leu Ser Gln Trp Arg Asn Arg Phe Gly Ser Ala Gly Phe Ala Ala

465 470 475 480

Ala His Ile Gly Ser Asn Ala Phe Lys Gln Ala Ser Met Leu Leu Ala

485 490 495

Leu Phe Asn Gly Gly Glu Gly Tyr Arg Val Glu Glu Ser Asp Gly Cys

500 505 510

Leu Met Leu Gly Trp His Thr Arg Pro Leu Ile Ala Thr Ser Ala Trp

515 520 525

Lys Leu Ser Thr Asn

530

<210> 95

<211> 345

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 95

Met Ala Ala Ser Asp Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Arg Thr Val Val

1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Val Ala Tyr Asn

20 25 30

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

35 40 45

Leu Asp Arg Lys Val Thr Ala Asn Ala Asn Pro Val Asp Gly Val Phe

50 55 60

Ser Phe Asp Val Leu Ile Asp Arg Arg Ile Asn Leu Leu Ser Arg Val

65 70 75 80

Tyr Arg Pro Ala Tyr Ala Asp Gln Glu Gln Pro Pro Ser Ile Leu Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Leu Cys Arg Arg Leu Val Gly Leu Cys Lys Cys Val Val Val Ser

130 135 140

Val Asn Tyr Arg Arg Ala Pro Glu Asn Pro Tyr Pro Cys Ala Tyr Asp

145 150 155 160

Asp Gly Trp Ile Ala Leu Asn Trp Val Asn Ser Arg Ser Trp Leu Lys

165 170 175

Ser Lys Lys Asp Ser Lys Val His Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

Ile Asp Val Leu Gly Asn Ile Leu Leu Asn Pro Met Phe Gly Gly Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Arg Asp Arg Asp Trp Tyr Trp Lys Ala Phe Leu Pro Glu Gly Glu

245 250 255

Asp Arg Glu His Pro Ala Cys Asn Pro Phe Ser Pro Arg Gly Lys Ser

260 265 270

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

275 280 285

Asp Leu Ile Arg Asp Trp Gln Leu Ala Tyr Ala Glu Gly Leu Lys Lys

290 295 300

Ala Gly Gln Glu Val Lys Leu Met His Leu Glu Lys Ala Thr Val Gly

305 310 315 320

Phe Tyr Leu Leu Pro Asn Asn Asn His Phe His Asn Val Met Asp Glu
325 330 335

Ile Ser Ala Phe Val Asn Ala Glu Cys
340 345

<210> 96

<211> 358

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 96

Met Ala Gly Gly Asn Glu Val Asn Leu Asn Glu Cys Lys Arg Ile Val
1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Leu Ala Tyr Lys
20 25 30

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

Leu Asp Arg Lys Val Pro Ala Asn Ser Phe Pro Leu Asp Gly Val Phe
50 55 60

Ser Phe Asp His Val Asp Ser Thr Thr Asn Leu Leu Thr Arg Ile Tyr
65 70 75 80

Gln Pro Ala Ser Leu Leu His Gln Thr Arg His Gly Thr Leu Glu Leu
85 90 95

Thr Lys Pro Leu Ser Thr Thr Glu Ile Val Pro Val Leu Ile Phe Phe
100 105 110

His Gly Gly Ser Phe Thr His Ser Ser Ala Asn Ser Ala Ile Tyr Asp
115 120 125

Thr Phe Cys Arg Arg Leu Val Thr Ile Cys Gly Val Val Val Val Ser
130 135 140

Val Asp Tyr Arg Arg Ser Pro Glu His Arg Tyr Pro Cys Ala Tyr Asp
145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gly Lys Asp Ser Asn Val Tyr Val Tyr Leu Ala Gly Asp Ser Ser

180 185 190

Gly Gly Asn Ile Ala His Asn Val Ala Val Arg Ala Thr Asn Glu Gly

195 200 205

Val Lys Val Leu Gly Asn Ile Leu Leu His Pro Met Phe Gly Gly Gln

210 215 220

Glu Arg Thr Gln Ser Glu Lys Thr Leu Asp Gly Lys Tyr Phe Val Thr

225 230 235 240

Ile Gln Asp Arg Asp Trp Tyr Trp Arg Ala Tyr Leu Pro Glu Gly Glu

245 250 255

Asp Arg Asp His Pro Ala Cys Asn Pro Phe Gly Pro Arg Gly Gln Ser

260 265 270

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

275 280 285

Asp Leu Val Gln Asp Trp Gln Leu Ala Tyr Val Asp Gly Leu Lys Lys

290 295 300

Thr Gly Leu Glu Val Asn Leu Leu Tyr Leu Lys Gln Ala Thr Ile Gly

305 310 315 320

Phe Tyr Phe Leu Pro Asn Asn Asp His Phe His Cys Leu Met Glu Glu

325 330 335

Leu Asn Lys Phe Val His Ser Ile Glu Asp Ser Gln Ser Lys Ser Ser

340 345 350

Pro Val Leu Leu Thr Pro

355

<210> 97

<211> 344

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 97

Met Ala Gly Ser Glu Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Lys Thr Val Val

1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Leu Ala Tyr Asn

20 25 30

Leu Leu Arg Arg Pro Asp Gly Thr Phe Asn Arg His Leu Ala Glu Phe

35 40 45

Leu Asp Arg Lys Val Pro Ala Asn Ala Asn Pro Val Asn Gly Val Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Pro Val Asp Gly Glu Ile Val Pro Val Ile Val Phe Phe His Gly

100 105 110

Gly Ser Phe Ala His Ser Ser Ala Asn Ser Ala Ile Tyr Asp Thr Leu

115 120 125

Cys Arg Arg Leu Val Gly Leu Cys Gly Ala Val Val Val Ser Val Asn

130 135 140

Tyr Arg Arg Ala Pro Glu Asn Arg Tyr Pro Cys Ala Tyr Asp Asp Gly

145 150 155 160

Trp Ala Val Leu Lys Trp Val Asn Ser Ser Ser Trp Leu Arg Ser Lys

165 170 175

Lys Asp Ser Lys Val Arg Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser Ser Gly Gly

180 185 190

Asn Ile Val His Asn Val Ala Val Arg Ala Val Glu Ser Arg Ile Asp

195 200 205

Val Leu Gly Asn Ile Leu Leu Asn Pro Met Phe Gly Gly Thr Glu Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Asp Arg Asp Trp Tyr Trp Arg Ala Phe Leu Pro Glu Gly Glu Asp Arg

245 250 255

Glu His Pro Ala Cys Ser Pro Phe Gly Pro Arg Ser Lys Ser Leu Glu

260 265 270

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

275 280 285

Ile Gln Asp Trp Gln Leu Lys Tyr Ala Glu Gly Leu Lys Lys Ala Gly

290 295 300

Gln Glu Val Lys Leu Leu Tyr Leu Glu Gln Ala Thr Ile Gly Phe Tyr

305 310 315 320

Leu Leu Pro Asn Asn Asn His Phe His Thr Val Met Asp Glu Ile Ala

325 330 335

Ala Phe Val Asn Ala Glu Cys Gln

340

<210> 98

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 98

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu

50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg

65 70 75 80

Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 99

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 99

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu

50 55 60

Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly Arg Gly Ala Ala Glu Ala Thr Arg Lys

65 70 75 80

Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly Gln

85 90 95

Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr Lys

100 105 110

<210> 100

<211> 102

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 100

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

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

100

<210> 101
<211> 101
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 101
Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu
1 5 10 15
Leu Ala Val Ser Asp Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu
20 25 30
Ala Gly Ile Val Met Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu
35 40 45

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

<210> 102

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 102

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

Asp Leu Asn Thr Gln
20

<210> 103

<211> 86

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 103

Met Ile Pro Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Val Glu Gln Ala
1 5 10 15

Ala Ala Leu Gly Glu Pro Gln Leu Cys Tyr Ile Leu Asp Ala Ile Leu
20 25 30

Phe Leu Tyr Gly Ile Val Leu Thr Leu Leu Tyr Cys Arg Leu Lys Ile
35 40 45

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

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

His Glu Lys Pro Pro Gln
85

<210> 104

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 104

Asp Gly Val Tyr Thr Gly Leu Ser Thr Arg Asn Gln Glu Thr Tyr Glu
1 5 10 15

Thr Leu Lys His Glu
20

<210> 105

<211> 171

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 105

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
85 90 95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val

100 105 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
115 120 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
130 135 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145 150 155 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys

165 170

<210> 106

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 106

Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1 5 10 15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
20 25 30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
35 40 45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile

50 55 60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65 70 75 80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Thr Ala Asp Thr Gln
85 90 95

Ala Leu Leu Arg Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp
100 105 110

Asp Ala Gln Tyr Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
115 120 125

<210> 107

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 107

Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr Ser
1 5 10 15

His Leu Gly Gly Asn

20

<210> 108

<211> 207

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 108

Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
20 25 30

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

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
50 55 60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65 70 75 80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr

85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile

195 200 205

<210> 109

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 109

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

1 5 10 15

Gly Leu Asn Gln Arg

20

<210> 110

<211> 182

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 110

Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu

1 5 10 15

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe

50 55 60

Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp

65 70 75 80

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro

85 90 95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala

100 105 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val

115 120 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly

165 170 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn

180

<210> 111

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 111

Asp Gln Leu Tyr Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser

1 5 10 15

His Leu Gln Gly Asn

20

<210> 112

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 112

Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu

1 5 10 15

Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys

20 25 30

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
65 70 75 80

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

145 150 155 160
Pro Pro Arg

<210> 113
<211> 164
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 113
Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
1 5 10 15
Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys
20 25 30
Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala

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

Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
100 105 110

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
115 120 125
Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
130 135 140
Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
145 150 155 160
Leu Pro Pro Arg

<210> 114
<211> 21
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide

<400> 114
Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp
1 5 10 15
Val Leu Asp Lys Arg
20
<210> 115
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 115
Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr
1 5 10 15
Ser Glu Ile Gly Met Lys
20
<210> 116
<211
> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 116

Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
1 5 10 15

Ala Leu His Met Gln
20

<210> 117

<211> 226

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 117

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

Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ala Val Tyr Leu Gly Pro Gly Cys Gln Ala
20 25 30

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

Asp Ala His Phe Gln Cys Pro His Asn Ser Ser Asn Asn Ala Asn Val
50 55 60

Thr Trp Trp Arg Val Leu His Gly Asn Tyr Thr Trp Pro Pro Glu Phe
65 70 75 80

Leu Gly Pro Gly Glu Asp Pro Asn Gly Thr Leu Ile Ile Gln Asn Val
85 90 95

Asn Lys Ser His Gly Gly Ile Tyr Val Cys Arg Val Gln Glu Gly Asn
100 105 110

Glu Ser Tyr Gln Gln Ser Cys Gly Thr Tyr Leu Arg Val Arg Gln Pro
115 120 125

Pro Pro Arg Pro Phe Leu Asp Met Gly Glu Gly Thr Lys Asn Arg Ile
130 135 140

Ile Thr Ala Glu Gly Ile Ile Leu Leu Phe Cys Ala Val Val Pro Gly

145 150 155 160

Thr Leu Leu Leu Phe Arg Lys Arg Trp Gln Asn Glu Lys Leu Gly Leu
165 170 175
Asp Ala Gly Asp Glu Tyr Glu Asp Glu Asn Leu Tyr Glu Gly Leu Asn
180 185 190
Leu Asp Asp Cys Ser Met Tyr Glu Asp Ile Ser Arg Gly Leu Gln Gly
195 200 205
Thr Tyr Gln Asp Val Gly Ser Leu Asn Ile Gly Asp Val Gln Leu Glu
210 215 220
Lys Pro
225

<210>
118

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 118

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

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

115 120 125

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

<210> 119
<211> 21
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 119
Glu Asn Leu Tyr Glu Gly Leu Asn Leu Asp Asp Cys Ser Met Tyr Glu
1 5 10 15
Asp Ile Ser Arg Gly
20

<210> 120
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> synthetic polypeptide
<400> 120
Arg Pro Arg Arg Ser Pro Ala Gln Asp Gly Lys Val Tyr Ile Asn Met
1 5 10 15
Pro Gly Arg Gly

20

<210> 121
<211> 68
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 121

Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu
1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser
20 25 30

Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly
35 40 45

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala
50 55 60

Ala Tyr Arg Ser
65

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 122

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 123

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 123

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1 5

<210> 124

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 124

His His His His His

1 5

<210> 125

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 125

His His His His His His

1 5

<210> 126

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 126

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1 5

<210> 127

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 127

Arg Tyr Ile Arg Ser

1 5

<210> 128

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 128

Phe His His Thr

1

<210> 129

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 129

Trp Glu Ala Ala Ala Arg Glu Ala Cys Cys Arg Glu Cys Cys Ala Arg

1 5 10 15

Ala

<210> 130

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> the amino acids in these positions can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> the amino acids in this position can be either Leu or Ile

<400> 130

Tyr Xaa Xaa Xaa

1

<210> 131

<211> 16

<212> PRT

<213

> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(3)

<223> the amino acids in these positions can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)

<223> the amino acids in this positions can be either Leu or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(10)

<223> the amino acids in these positions can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(12)

<223> the amino acids in these positions may be present or absent such

that either one or two amino acids are present. the amino acids in these positions can be any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(15)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)

<223> the amino acids in this positions can be either Leu or Ile

<400> 131

Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 132

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 132

gattacaagg atgacgatga caag 24

<210> 133

<211> 732

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 133

Gly Gly Ala Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Ala Cys Ala Ala Cys
1 5 10 15

Thr Gly Cys Ala Gly Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Gly Gly Cys Cys
20 25 30

Thr Gly Ala Gly Cys Thr Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Cys Cys Thr
35 40 45

Gly Gly Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala Gly Thr Gly Ala Ala Gly Ala
50 55 60

Thr Ala Thr Cys Cys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Cys Thr Thr Cys
65 70 75 80

Thr Gly Gly Thr Thr Ala Cys Thr Cys Ala Thr Thr Cys Ala Cys Thr
85 90 95

Gly Gly Cys Thr Ala Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Ala Cys Thr
100 105 110

Gly Gly Gly Thr Gly Ala Ala Gly Cys Ala Gly Ala Gly Cys Cys Ala
115 120 125

Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gly Ala Gly Cys Cys Thr Thr Gly Ala Gly
130 135 140

Thr Gly Gly Ala Thr Thr Gly Gly Ala Cys Thr Thr Ala Thr Thr Ala
145 150 155 160

Cys Thr Cys Cys Thr Thr Ala Cys Ala Ala Thr Gly Gly Thr Gly Cys
165 170 175

Thr Thr Cys Thr Ala Gly Cys Thr Ala Cys Ala Ala Cys Cys Ala Gly
180 185 190

Ala Ala Gly Thr Thr Cys Ala Gly Gly Gly Gly Cys Ala Ala Gly Gly
195 200 205

Cys Cys Ala Cys Ala Thr Thr Ala Ala Cys Thr Gly Thr Ala Gly Ala
210 215 220

Cys Ala Ala Gly Thr Cys Ala Thr Cys Cys Ala Gly Cys Ala Cys Ala
225 230 235 240

Gly Cys Cys Thr Ala Cys Ala Thr Gly Gly Ala Cys Cys Thr Cys Cys
245 250 255
Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Gly Ala Cys Ala Thr Cys Thr Gly Ala
260 265 270
Ala Gly Ala Cys Thr Cys Thr Gly Cys Ala Gly Thr Cys Thr Ala Thr
275 280 285
Thr Thr Cys Thr Gly Thr Gly Cys Ala Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly
290 295 300
Gly Thr Thr Ala Cys Gly Ala Cys Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly

305 310 315 320
Thr Thr Thr Thr Gly Ala Cys Thr Ala Cys Thr Gly Gly Gly Gly Cys
325 330 335
Cys Ala Ala Gly Gly Gly Ala Cys Cys Ala Cys Gly Gly Thr Cys Ala
340 345 350
Cys Cys Gly Thr Cys Thr Cys Cys Thr Cys Ala Gly Gly Thr Gly Gly
355 360 365
Ala Gly Gly Cys Gly Gly Thr Thr Cys Ala Gly Gly Cys Gly Gly Cys
370 375 380

Gly Gly Thr Gly Gly Cys Thr Cys Thr Ala Gly Cys Gly Gly Thr Gly
385 390 395 400
Gly Cys Gly Gly Ala Thr Cys Gly Gly Ala Cys Ala Thr Cys Gly Ala
405 410 415
Gly Cys Thr Cys Ala Cys Thr Cys Ala Gly Thr Cys Thr Cys Cys Ala
420 425 430
Gly Cys Ala Ala Thr Cys Ala Thr Gly Thr Cys Thr Gly Cys Ala Thr
435 440 445
Cys Thr Cys Cys Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Thr

450 455 460
Cys Ala Cys Cys Ala Thr Gly Ala Cys Cys Thr Gly Cys Ala Gly Thr
465 470 475 480
Gly Cys Cys Ala Gly Cys Thr Cys Ala Ala Gly Thr Gly Thr Ala Ala
485 490 495

Gly Thr Thr Ala Cys Ala Thr Gly Cys Ala Cys Thr Gly Gly Thr Ala
500 505 510
Cys Cys Ala Gly Cys Ala Gly Ala Ala Gly Thr Cys Ala Gly Gly Cys
515 520 525

Ala Cys Cys Thr Cys Cys Cys Cys Cys Ala Ala Ala Ala Gly Ala Thr
530 535 540
Gly Gly Ala Thr Thr Thr Ala Thr Gly Ala Cys Ala Cys Ala Thr Cys
545 550 555 560
Cys Ala Ala Ala Cys Thr Gly Gly Cys Thr Thr Cys Thr Gly Gly Ala
565 570 575
Gly Thr Cys Cys Cys Ala Gly Gly Thr Cys Gly Cys Thr Thr Cys Ala
580 585 590
Gly Thr Gly Gly Cys Ala Gly Thr Gly Gly Gly Thr Cys Thr Gly Gly

595 600 605
Ala Ala Ala Cys Thr Cys Thr Thr Ala Cys Thr Cys Thr Cys Thr Cys
610 615 620
Ala Cys Ala Ala Thr Cys Ala Gly Cys Ala Gly Cys Gly Thr Gly Gly
625 630 635 640
Ala Gly Gly Cys Thr Gly Ala Ala Gly Ala Thr Gly Ala Thr Gly Cys
645 650 655
Ala Ala Cys Thr Thr Ala Thr Thr Ala Cys Thr Gly Cys Cys Ala Gly
660 665 670

Cys Ala Gly Thr Gly Gly Ala Gly Thr Ala Ala Gly Cys Ala Cys Cys
675 680 685
Cys Thr Cys Thr Cys Ala Cys Gly Thr Ala Cys Gly Gly Thr Gly Cys
690 695 700
Thr Gly Gly Gly Ala Cys Ala Ala Ala Gly Thr Thr Gly Gly Ala Ala
705 710 715 720
Ala Thr Cys Ala Ala Ala Gly Cys Thr Ala Gly Cys
725 730

<210> 134

<211> 244

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 134

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

Gly Ala Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
20 25 30

Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu
35 40 45

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

50 55 60

Lys Phe Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Met Asp Leu Leu Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr
85 90 95

Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Asp Gly Arg Gly Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Glu Leu Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser
145 150 155 160

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
165 170 175

Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly
180 185 190

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

195 200 205

Thr Ile Ser Ser Val Glu Ala Glu Asp Asp Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln

210 215 220

Gln Trp Ser Lys His Pro Leu Thr Tyr Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu

225 230 235 240

Ile Lys Ala Ser

<210> 135

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 135

ggatcccagg tgcagctgca ggaatctggc cctggcctcg tgaagcccag cgagacactg 60

agcctgacct gtaccgtgtc tggcggctct gtgtccagcg gcagctacta ctggtcctgg 120

atcagacagc cccctggcaa gggcctggaa tggatcggct acatctacta cagcggctcc 180

accaactaca accccagcct gaagtccaga gtgaccatca gcgtggacac cagcaagaac 240

cagttctccc tgaagctgag cagcgtgaca gccgccgata ccgccgtgta ctactgtgcc 300

agagagggca agaacggcgc cttcgacatc tggggccagg gcacaatggt caccgtgtca 360

tctggtggag gaggatctgg gggaggcgga agcggaggcg gcggatctga tattcagatg 420

acccagagcc ccagcagcct gagcgcctct gtgggcgaca gagtgacaat tacctgccgg 480

gccagccaga gcatcagcag ctacctgaac tggtatcagc agaagcccgg caaggccccc 540

aaactgctga tctacgccgc cagctctctg cagtctggcg tgcccagcag attttccggc 600

tctggcagcg gcaccgactt caccctgacc atctctagcc tgcagcccga ggacttcgcc 660

acctactact gccagcagag ctacagcacc cccctgacct ttggcggagg caccaaggtg 720

gaaatcaag 729

<210> 136

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400

> 136

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

1 5 10 15

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

65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Gly Lys Asn Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

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

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

<210> 137
<211> 1044

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 137

atggctgcga gcgatgaagt taatcttatt gagagcagaa cagtggttcc tctcaataca 60

tgggttttaa tatccaactt caaagtagcc tacaatatcc ttcgtcgccc tgatggaacc 120

tttaaccgac acttagctga gtatctagac cgtaaagtca ctgcaaacgc caatccggtt 180

gatggggttt tctcgttcga tgtcttgatt gatcgcagga tcaatcttct aagcagagtc 240

tatagaccag cttatgcaga tcaagagcaa cctcctagta ttttagatct cgagaagcct 300

gttgatggcg acattgtccc tgttatattg ttcttccatg gaggtagctt tgctcattct 360

tctgcaaaca gtgccatcta cgatactctt tgtcgcaggc ttgttggttt gtgcaagtgt 420

gttgttgtct ctgtgaatta tcggcgtgca ccagagaatc catacccttg tgcttatgat 480

gatggttgga ttgctcttaa ttgggttaac tcgagatctt ggcttaaatc caagaaagac 540

tcaaaggtcc atattttctt ggctggtgat agctctggag gtaacatcgc gcataatgtg 600

gctttaagag cgggtgaatc gggaatcgat gttttgggga acattctgct gaatcctatg 660

tttggtggga atgagagaac ggagtctgag aaaagtttgg atgggaaata ctttgtgacg 720

gttagagacc gcgattggta ctggaaagcg tttttacccg agggagaaga tagagagcat 780

ccagcgtgta atccgtttag cccgagaggg aaaagcttag aaggagtgag tttccccaag 840

agtcttgtgg ttgtcgcggg tttggatttg attagagatt ggcagttggc atacgcggaa 900

gggctcaaga aagcgggtca agaggttaag cttatgcatt tagagaaagc aactgttggg 960

ttttacctct tgcctaataa caatcatttc cataatgtta tggatgagat ttcggcgttt 1020

gtaaacgcgg aatgtatgcg tgac 1044

<210> 138

<211> 348

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 138

Met Ala Ala Ser Asp Glu Val Asn Leu Ile Glu Ser Arg Thr Val Val
1 5 10 15

Pro Leu Asn Thr Trp Val Leu Ile Ser Asn Phe Lys Val Ala Tyr Asn
20 25 30

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

35 40 45

Leu Asp Arg Lys Val Thr Ala Asn Ala Asn Pro Val Asp Gly Val Phe

50 55 60

Ser Phe Asp Val Leu Ile Asp Arg Arg Ile Asn Leu Leu Ser Arg Val

65 70 75 80

Tyr Arg Pro Ala Tyr Ala Asp Gln Glu Gln Pro Pro Ser Ile Leu Asp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Thr Leu Cys Arg Arg Leu Val Gly Leu Cys Lys Cys Val Val Val Ser

130 135 140

Val Asn Tyr Arg Arg Ala Pro Glu Asn Pro Tyr Pro Cys Ala Tyr Asp

145 150 155 160

Asp Gly Trp Ile Ala Leu Asn Trp Val Asn Ser Arg Ser Trp Leu Lys

165 170 175

Ser Lys Lys Asp Ser Lys Val His Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser Ser

180 185 190

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

195 200 205

Ile Asp Val Leu Gly Asn Ile Leu Leu Asn Pro Met Phe Gly Gly Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Arg Asp Arg Asp Trp Tyr Trp Lys Ala Phe Leu Pro Glu Gly Glu

245 250 255

Asp Arg Glu His Pro Ala Cys Asn Pro Phe Ser Pro Arg Gly Lys Ser

260 265 270

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

275 280 285

Asp Leu Ile Arg Asp Trp Gln Leu Ala Tyr Ala Glu Gly Leu Lys Lys

290 295 300

Ala Gly Gln Glu Val Lys Leu Met His Leu Glu Lys Ala Thr Val Gly

305 310 315 320

Phe Tyr Leu Leu Pro Asn Asn Asn His Phe His Asn Val Met Asp Glu

325 330 335

Ile Ser Ala Phe Val Asn Ala Glu Cys Met Arg Asp

340 345

<210> 139

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 139

atgaagagag atcatcatca tcatcatcat caagataaga agactatgat gatgaatgaa 60

gaagacgacg gtaacggcat ggatgagctt ctagctgttc ttggttacaa ggttaggtca 120

tccgaaatgg ctgatgttgc tcagaaactc gagcagcttg aagttatgat gtctaatgtt 180

caagaagacg atctttctca actcgctact gagactgttc actataatcc ggcggagctt 240

tacacgtggc ttgattctat gctcaccgac cttaat 276

<210> 140

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 140

Met Lys Arg Asp His His His His His His Gln Asp Lys Lys Thr Met

1 5 10 15

Met Met Asn Glu Glu Asp Asp Gly Asn Gly Met Asp Glu Leu Leu Ala

20 25 30

Val Leu Gly Tyr Lys Val Arg Ser Ser Glu Met Ala Asp Val Ala Gln

35 40 45

Lys Leu Glu Gln Leu Glu Val Met Met Ser Asn Val Gln Glu Asp Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90

<210> 141

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 141

ggatcccagg tgcagctggt gcagtctggc gccgaagtga aaagaccagg cgccagcgtg 60

caggtctcct gtagagccag cggctacagc atcaacacct actacatgca gtgggtgcgc 120

caggccccag gcgctggact ggaatggatg ggcgtgatca accccagcgg cgtgacaagc 180

tacgcccaga aattccaggg cagagtgacc ctgaccaacg acaccagcac caacacagtg 240

tacatgcagc tgaacagcct gaccagcgcc gacaccgccg tgtactactg tgccagatgg 300

gccctgtggg gcgacttcgg catggatgtg tggggcaagg gcaccctcgt gaccgtgtct 360

agcggaggcg gaggatctgg cggaggggga tctggaggcg gcggaagcga catccagatg 420

acccagagcc ctagcaccct gagcgccagc atcggcgata gagtgaccat cacctgtcgg 480

gccagcgagg gcatctatca ctggctggcc tggtatcagc agaagcccgg caaggccccc 540

aagctgctga tctacaaggc cagctctctg gcctctggcg cccctagcag attttctggc 600

agcggctccg gcaccgactt caccctgaca atcagcagcc tgcagcccga cgacttcgcc 660

acctactatt gccagcagta cagcaactac cccctgacct tcggcggagg caccaagctg 720

gaaatcaag 729

<210> 142

<211> 243

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide

<400> 142

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

1 5 10 15

Gly Ala Ser Val Gln Val Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Ser Ile Asn

20 25 30

Thr Tyr Tyr Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Ala Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Asn Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Trp Ala Leu Trp Gly Asp Phe Gly Met Asp Val Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Ser Glu Gly Ile Tyr His Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

165 170 175

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

180 185 190

Gly Ala Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

195 200 205

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

210 215 220

Gln Gln Tyr Ser Asn Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 143

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 143

accacgacgc cagcgccgcg accaccaaca ccggcgccca ccatcgcgtc gcagcccctg 60

tccctgcgcc cagaggcgtg ccggccagcg gcgggggcgc cagtgcacac gagggggctg 120

gacttcgcct gtgat 135

<210> 144

<211> 204

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 144

ttttgggtgc tggtggtggt tggtggagtc ctggcttgct atagcttgct agtaacagtg 60

gcctttatta ttttctgggt gaggagtaag aggagcaggc tcctgcacag tgactacatg 120

aacatgactc cccgccgccc cgggcccacc cgcaagcatt accagcccta tgccccacca 180

cgcgacttcg cagcctatcg ctcc 204

<210> 145

<211> 111

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polynucleotide

<400> 145

cggagggacc agaggctgcc ccccgatgcc cacaagcccc ctgggggagg cagtttccgg 60

acccccatcc aagaggagca ggccgacgcc cactccaccc tggccaagat c 111