



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0120701  
(43) 공개일자 2017년10월31일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07K 14/705** (2006.01) **A61K 35/17** (2014.01)  
**A61K 38/00** (2006.01) **C12N 5/0783** (2010.01)

(52) CPC특허분류  
**C07K 14/70517** (2013.01)  
**A61K 35/17** (2013.01)

(21) 출원번호 10-2017-7027794

(22) 출원일자(국제) 2016년03월04일  
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2017년09월28일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/021064

(87) 국제공개번호 WO 2016/141357  
 국제공개일자 2016년09월09일

(30) 우선권주장  
 62/128,979 2015년03월05일 미국(US)

(71) 출원인  
 프레드 헛чин슨 켄서 리서치 센터  
 미국 워싱턴 98109, 시애틀, 1100 페어뷰 애버뉴  
 엔.,

(72) 발명자  
**오다 사논 케이.**  
 미국 워싱턴주 98155 레이크 포레스트 파크 노스  
 이스트 194th 스트리트 3011  
**그린버그 필립 디.**  
 미국 워싱턴주 98040 머서 아일랜드 에스이 71st  
 스트리트 7400  
**슈미트 토마스 엠.**  
 미국 워싱턴주 98107 1st 에비뉴 엔더블유 4426

(74) 대리인  
**특허법인한성**

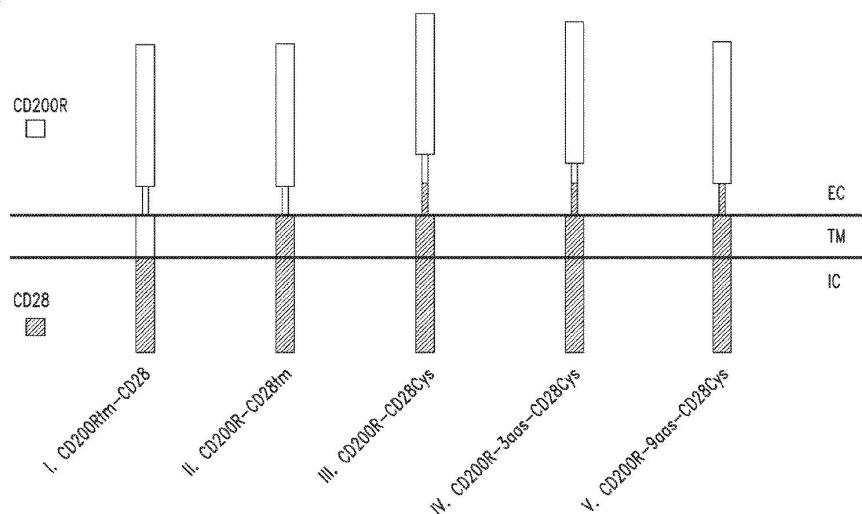
전체 청구항 수 : 총 172 항

(54) 발명의 명칭 면역조절 융합 단백질 및 그 용도

### (57) 요 약

본원은 세포외 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 면역조절 융합 단백질에 관한 것으로서, 표적의 결합이 T 세포와 같은 숙주 세포 내에서 조절 신호를 생성할 수 있다. 본원은 또한 그러한 면역조절 융합 단백질을 발현하는 면역 세포의, 암 또는 감염성 질환과 같은 특정 질환을 치료하기 위한 용도에 관한 것이다.

### 대 표 도



(52) CPC특허분류

*A61K 38/00* (2013.01)

*C12N 5/0636* (2013.01)

*C12N 5/0637* (2013.01)

*C07K 2319/03* (2013.01)

*C12N 2510/00* (2013.01)

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

(a) 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, (b) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 (c) 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질로서,

상기 융합 단백질의 표적에 대한 특이적 결합에 의해 형성되는 복합체 (융합 단백질::표적 복합체)의 세포외 부분은 (i) 대략 면역 시냅스의 두 세포막 사이의 거리 이하, (ii) 대략 T 세포 수용체 (TCR)과 상기 TCR에 의해 특이적으로 결합된 MHC-펩티드 복합체 사이의, 복합체의 세포외 부분에 걸친 거리 이하 또는 실질적으로 동일한 거리, (iii) 대략 결합 도메인을 포함하는 자연 분자와 이의 동족인 결합 파트너 사이의, 복합체의 세포외 부분에 걸친 거리 이하 또는 실질적으로 동일한 거리; (iv) 대략 40 nm, 25 nm, 20 nm, 15 nm, 또는 14 nm 미만 또는 이하; 또는 (v) 이들의 임의의 조합의 크기이거나 그러한 거리에 걸친 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 융합 단백질::표적 복합체는 초분자 활성집락 (SMAC)에 편재된 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 융합 단백질::표적 복합체는 중앙 초분자 활성집락 (cSMAC)에 편재된 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 4

제 2 항 또는 제 3 항에 있어서, 상기 SMAC는 항원::인간 백혈구 항원 (HLA) 복합체와 연관된 T 세포 수용체의 너비를 가지는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포외 요소는 음성적 신호와 연관되고 상기 세포내 요소는 양성적 신호와 연관된 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 6

(a) 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, (b) 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 (c) 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질로서,

상기 결합 도메인은 억제성 분자 결합 도메인이거나 그와 95% 이상의 동일성을 가지고, 상기 세포내 신호전달 도메인은 공동자극(costimulatory) 또는 자극 분자 결합 도메인이거나 또는 그와 95% 이상의 동일성을 포함하고, 그리고

여기서 억제성 분자는 B7-CD28 상과 (superfamily) 멤버가 아니거나, CTLA4가 아니거나, PD1이 아니거나, B7에 결합하지 않거나, 당단백이거나, 또는 이들의 임의의 조합인 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원에 특이적인 TCR 또는 키메릭 항원 수용체를 포함하는 T 세포 내의 상기 융합 단백질의 발현은, 상기 항원의 결합 및/또는 이후의 대상으로의 투여에 의하여, 상기 T 세포에 의해 적어도 약 1.5 배, 2 배, 또는 3 배 증가된 생존, 증식, 세포독성, 사이토카인 분비 및/또는 복수 회의 자극에 대한 반응을 야기하고, 및/또는 상기 융합 단백질을 함유하지 않는 것을 제외하고 상기 T 세포와 실질적으로 동일한 세포와 비교하여 상기 세포가 투여된 대상에서 적어도 약 1.5 배, 2 배 또는 3 배 증가된 생존 기간, 질병-없는 생존 또는 하나 또는 그 이상의 질병 증상의 개선을 야기하는, 융합 단백질.

#### 청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서, T 세포 내에서 발현될 때, TCR 또는 T 세포에 의해 발현되는 키 메릭 항원 수용체(CAR)와 함께 공동-편재될 수 있는, 융합 단백질.

#### 청구항 9

제 6 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 도메인 및/또는 억제성 분자가 CD200 또는 CD47에 특이적으로 결합하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 10

제 6 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 도메인이 CD200R, SIRP $\alpha$ , TIM3, CD2, CD95 (Fas), CD223 (LAG3), A2aR, KIR, TIM3, CD300 또는 LPA5로부터 유래되거나 및/또는 억제성 분자가 CD200R, SIRP $\alpha$ , TIM3, CD2, CD95 (Fas), CD223 (LAG3), A2aR, KIR, TIM3, CD300 또는 LPA5인, 융합 단백질.

#### 청구항 11

제 6 항 내지 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서, 억제성 분자가 CD200R이거나 이를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 12

제 6 항 내지 제 9 항에 있어서, 억제성 분자가 SIRP $\alpha$ 이거나 또는 이를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서, 결합 도메인이 항체 결합 단편, 수용체 엑토도메인, 사이토카인 또는 리간드인, 융합 단백질.

#### 청구항 14

제 1 항 내지 제 13 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CD152 (CTLA4), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 또는 LPA5의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 15

제 1 항 내지 제 14 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 추가적인 세포외 부분을 포함하며, 여기서 추가적인 세포외 부분은 임의로, 결합 도메인 공급원 분자와 별개이거나 또는 결합 도메인을 함유하지 않는 분자의 세포외 부분으로부터 오거나 이와 동일성을 공유하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 16

제 1 항 내지 제 15 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 소수성 요소로부터의 세포외 부분, 또는 소수성 요소 또는 이의 부분을 함유하는 세포외 부분을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 17

제 15 항 또는 제 16 항에 있어서, 추가적인 세포외 부분이 다량체화 (multimerization) 도메인 및/또는 스페이서 (spacer)를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 18

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하거나, 또는 결합 도메인이 CD200R의 CD200-결합 부분 또는 이의 결합 변이체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 19

제 1 항 내지 제 17 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분을 포함하거나, 또는 결합 도메인이 SIRP $\alpha$ 의 CD47 결합 부분 또는 이의 결합 변이체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 20

제 1 항 내지 제 19 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소 또는 추가적인 세포외 부분이 다량체화 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 21

제 20 항에 있어서, 다량체화 도메인이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 22

제 20 항에 있어서, 다량체화 도메인이, 소수성 요소로부터 약 2 내지 약 15 아미노산 내에 시스테인 잔기를 함유하도록 변경된 세포외 요소를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 23

제 1 항 내지 제 22 항 중 어느 한 항에 있어서, 소수성 요소가 CD2, CD3  $\varepsilon$ , CD3  $\delta$ , CD3  $\zeta$ , CD25, CD27, CD28, CD40, CD79A, CD79B, CD80, CD86, CD95 (Fas), CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD200R, CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD272 (BTLA), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1), CD278 (ICOS), CD279 (PD-1), CD300, CD357 (GITR), A2aR, DAP10, FcR  $\alpha$ , FcR  $\beta$ , FcR  $\gamma$ , Fyn, GAL9, KIR, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PTCH2, ROR2, Ryk, S1p76, SIRP  $\alpha$ , pT  $\alpha$ , TCR  $\alpha$ , TCR  $\beta$ , TIM3, TRIM, LPA5 또는 Zap70의 막통과 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 24

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 25

제 1 항 내지 제 23 항 중 어느 한 항에 있어서, 소수성 요소가 4-1BB의 막통과 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 26

제 1 항 내지 제 25 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 공동자극 분자의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 27

제 26 항에 있어서, 공동자극 분자가 CD28, CD137 (4-1BB) 또는 ICOS를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 28

제 1 항 내지 제 27 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD3  $\varepsilon$ , CD3  $\delta$ , CD3  $\zeta$ , CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcR  $\alpha$ , FcR  $\beta$ , FcR  $\gamma$ , Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, S1p76, pT  $\alpha$ , TCR  $\alpha$ , TCR  $\beta$ , TRIM, Zap70, PTCH2 또는 이들의 임의의 조합의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 29

제 1 항 내지 제 28 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD137 (4-1BB), CD27, CD28, ICOS, OX40 (CD134) 또는 이들의 임의의 조합의 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 30

제 1 항 내지 제 29 항에 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD137 (4-1BB) 또는 CD28, 또는 이들의 임의의 조합의 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 31

제 1 항 내지 제 30 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD28의 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 32

제 1 항 내지 제 31 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD137 (4-1BB)의 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 33

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 표적이 면역억제성 리간드인, 융합 단백질.

#### 청구항 34

제 1 항 내지 제 32 항 중 어느 한 항에 있어서, 표적이 CD47, CD58, CD95L (FasL), CD200, CD270 (HVEM), CD274 (PD-L1) 및 GAL9로부터 선택되는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 35

제 1 항 내지 제 34 항 중 어느 한 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28 또는 41BB의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 36

제 35 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 37

제 35 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 200 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 38

제 35 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 약 225 아미노산 내지 적어도 약 235 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 39

제 35 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 약 234 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 40

제 35 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서, CD200R이 인간 CD200R인 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 41

제 35 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 요소가 제 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 42

제 41 항에 있어서, 제 2 세포내 신호전달 도메인이 CD137 (4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 43

제 35 항 내지 제 42 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 44**

제 43 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 45**

제 1 항 내지 제 44 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 요소가 CD3 ζ 신호전달 도메인을 함유하지 않고 및/또는 T 세포에 주 신호(primary signal)을 전달할 수 있는 신호전달 도메인을 함유하지 않고 및/또는 T 세포에 주 신호를 자연적으로 전달할 수 있는 분자로부터의 신호전달 도메인을 함유하지 않는 것인, 융합 단백질.

**청구항 46**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 2에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 3에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 47**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 2에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 48**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 8에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 49**

제 41 항에 있어서, 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 50**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 11에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 51**

제 50 항에 있어서, 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 52**

제 51 항에 있어서, 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 13에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 제 2 세포내 신호전달 도메인을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 53**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD137 (4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 54**

제 53 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 55**

제 53 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 200 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 56**

제 53 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 약 225 아미노산 내지 적어도 약 235 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 57**

제 53 항 내지 제 56 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 58**

제 57 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 59**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD137 (4-1BB)의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD137 (4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 60**

제 59 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 61**

제 59 항에 있어서, CD200R의 세포외 부분이 CD200R의 N-말단으로부터 적어도 230 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 62**

제 59 항 내지 제 61 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD137 (4-1BB) 막통과 도메인으로부터 연장된 CD137 (4-1BB)의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 63**

제 62 항에 있어서, CD137 (4-1BB)의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 64**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 8에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 13에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 65**

제 64 항에 있어서, 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 제 2 세포내 신호전달 도메인을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 66**

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 11에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다양체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 13에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 67

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 68

제 67 항에 있어서, SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분이 SIRP $\alpha$ 의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 69

제 67 항에 있어서, SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분이 SIRP $\alpha$ 의 N-말단으로부터 적어도 361 아미노산을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 70

제 67 항 내지 제 69 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 요소가 제 2 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 71

제 70 항에 있어서, 제 2 세포내 신호전달 도메인이 CD137 (4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 72

제 67 항 내지 제 71 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 73

제 72 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 74

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 17에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 18에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 75

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 17에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 76

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 21에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다양체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 77

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 21에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 13에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 78

제 70 항에 있어서, 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 서열에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 79

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD279 (PD-1)의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 80

제 79 항에 있어서, CD279 (PD-1)의 세포외 부분이 CD279 (PD-1)의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 81

제 79 항에 있어서, CD279 (PD-1)의 세포외 부분이 CD279 (PD-1)의 N-말단으로부터 적어도 100 아미노산의 세포외 도메인의 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 82

제 79 항에 있어서, CD279 (PD-1)의 세포외 부분은 CD279 (PD-1)의 N-말단으로부터 적어도 149 아미노산의 세포외 도메인의 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 83

제 79 항 내지 제 82 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 84

제 83 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 85

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 89에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 86

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 91에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합

단백질.

### 청구항 87

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 95에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 88

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD95 (Fas)의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 89

제 88 항에 있어서, CD95 (Fas)의 세포외 부분이 CD95 (Fas)의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 90

제 88 항에 있어서, CD95 (Fas)의 세포외 부분은 CD95 (Fas)의 N-말단으로부터 적어도 175 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 91

제 88 항에 있어서, CD95 (Fas)의 세포외 부분은 CD95 (Fas)의 N-말단으로부터 적어도 173 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 92

제 88 항에 있어서, CD95 (Fas)의 세포외 부분은 CD95 (Fas)의 N-말단으로부터 적어도 166 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 93

제 88 항에 있어서, CD95 (Fas)의 세포외 부분은 CD95 (Fas)의 N-말단으로부터 적어도 161 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 94

제 88 항 내지 제 93 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 95

제 94 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 96

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 71에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

### 청구항 97

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 73에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및

SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 98

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 75에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 99

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 CD2의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 100

제 99 항에 있어서, CD2의 세포외 부분이 CD2의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 101

제 99 항에 있어서, CD2의 세포외 부분은 CD2의 N-말단으로부터 적어도 175 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 102

제 99 항 내지 제 101 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 103

제 102 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 104

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 61에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 105

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 TIM3의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 106

제 105 항에 있어서, TIM3의 세포외 부분이 TIM3의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 107

제 105 항에 있어서, TIM3의 세포외 부분은 TIM3의 N-말단으로부터 적어도 180 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 108

제 105 항 내지 제 107 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 109

제 108 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 110

제 1 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 LAG3의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소가 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 111

제 110 항에 있어서, LAG3의 세포외 부분이 LAG3의 세포외 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 112

제 110 항에 있어서, LAG3의 세포외 부분은 LAG3의 N-말단으로부터 적어도 410 아미노산의 세포외 도메인의 적어도 일부를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 113

제 110 항 내지 제 112 항 중 어느 한 항에 있어서, 세포외 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 LAG3의 세포외 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 114

제 113 항에 있어서, CD28의 세포외 부분이 시스테인 잔기를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 115

제 5 항에 있어서, 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 31에 명시된 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 36에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 116

제 115 항에 있어서, 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 가지는 제 2 세포내 신호전달 도메인을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 117

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 34에 명시된 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 36에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 118

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 40에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 41에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 119

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 40에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 120**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 44에 명시된 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 121**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 44에 명시된 아미노산 서열을 가지는 결합 도메인 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 36에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 122**

제 121 항에 있어서, 세포내 요소가 SEQ. ID. NO: 28에 명시된 아미노산 서열을 더 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 123**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 90에 명시된 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 124**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 92에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.:28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 125**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 96에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.:28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 126**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 72에 명시된 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.:28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 127**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 74에 명시된 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.:28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 128**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 76에 명시된 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다량체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.:28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 129**

제 5 항에 있어서, (a) 세포외 요소가 SEQ ID NO.: 62에 명시된 아미노산 서열 및 SEQ ID NO.: 32에 명시된 아미노산 서열을 가지는 다양체화 도메인을 포함하고, (b) 소수성 요소가 SEQ ID NO.: 27에 명시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 (c) 세포내 요소가 SEQ ID NO.: 28에 명시된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 융합 단백질.

**청구항 130**

제 1 항 내지 제 129 항 중 어느 한 항에 따른 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자.

**청구항 131**

제 130 항에 따른 핵산 분자를 포함하는 벡터.

**청구항 132**

제 131 항에 있어서, 바이러스 벡터인, 벡터.

**청구항 133**

제 132 항에 있어서, 바이러스 벡터가 렌티바이러스 또는 레트로바이러스 벡터인, 벡터.

**청구항 134**

제 133 항에 있어서, 바이러스 벡터가 렌티바이러스 벡터인, 벡터.

**청구항 135**

제 131 항 내지 제 134 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원-특이적 TCR을 더 암호화하는, 벡터.

**청구항 136**

제 135 항에 있어서, TCR이 숙주세포에 외인성인, 벡터.

**청구항 137**

제 135 항 또는 제 136 항에 있어서, TCR이 HLA 클래스 I 제한 항원에 특이적인, 벡터.

**청구항 138**

제 135 항 내지 제 137 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 암-특이적 항원인, 벡터.

**청구항 139**

제 138 항에 있어서, 암-특이적 항원이 WT-1, 메소텔린(mesothelin) 또는 사이클린-A1을 포함하는 것인, 벡터.

**청구항 140**

제 131 항 내지 제 139 항 중 어느 한 항에 있어서, 리간드를 더 암호화하는, 벡터.

**청구항 141**

제 140 항에 있어서, 리간드가 CD200, CD47, PD-L1 또는 CD58인, 벡터.

**청구항 142**

제 131 항 내지 제 141 항 중 어느 한 항에 있어서, 내인성 수용체의 발현을 감소시키기 위한 siRNA를 더 암호화하는, 벡터.

**청구항 143**

제 142 항에 있어서, 내인성 수용체가 CD200R, SIRP  $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD95 (Fas) 또는 CD2를 포함하거나, TCR 이거나 이의 부분인, 벡터.

**청구항 144**

제 1 항 내지 제 129 항 중 어느 한 항에 따른 융합 단백질을 포함하는 숙주 세포.

**청구항 145**

제 1 항 내지 제 129 항 중 어느 한 항에 따른 적어도 둘의 상이한 융합 단백질을 포함하는 숙주 세포.

**청구항 146**

제 145 항에 있어서, 제 79 항에 따른 융합 단백질 및 제 105 항에 따른 융합 단백질을 포함하는 숙주 세포.

**청구항 147**

제 130 항에 따른 핵산 분자를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 148**

제 131 항 내지 제 143 항 중 어느 한 항에 따른 백터를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 149**

제 144 항 내지 제 148 항 중 어느 한 항에 있어서, 면역계 세포인, 숙주 세포.

**청구항 150**

제 149 항에 있어서, 면역계 세포가 T 세포인, 숙주 세포.

**청구항 151**

제 150 항에 있어서, T 세포가 CD4+ T 세포인, 숙주 세포.

**청구항 152**

제 150 항에 있어서, T 세포가 CD8+ T 세포인, 숙주 세포.

**청구항 153**

제 144 항 내지 제 152 항 중 어느 한 항에 있어서, 임의로 항원-특이적 TCR인 항원 수용체를 더 포함하는, 숙주 세포.

**청구항 154**

제 153 항에 있어서, 항원-특이적 TCR이 세포 또는 숙주에 외인성인, 숙주 세포.

**청구항 155**

제 153 항 또는 제 154 항에 있어서, TCR이 항원::HLA 복합체에 고친화성으로 결합하는 것인, 숙주 세포.

**청구항 156**

제 155 항에 있어서, 고친화성 결합은  $K_a$ 가  $10^7 \text{ M}^{-1}$ 과 동일하거나 더 큰 것인, 숙주 세포.

**청구항 157**

제 153 항 내지 제 156 항 중 어느 한 항에 있어서, TCR은 HLA 클래스 I 제한 항원에 특이적인, 숙주 세포.

**청구항 158**

제 153 항 내지 제 156 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 암-특이적 항원인, 숙주 세포.

**청구항 159**

제 158 항에 있어서, 암-특이적 항원이 WT-1, 메소텔린 또는 사이클린-A1을 포함하는 것인, 숙주 세포.

#### 청구항 160

제 153 항 내지 제 156 항 중 어느 한 항에 있어서, 항원이 바이러스 항원인, 숙주 세포.

#### 청구항 161

제 153 항에 있어서, 항원 수용체가 키메릭 항원 수용체인, 숙주 세포.

#### 청구항 162

제 161 항에 있어서, 키메릭 항원 수용체가 세포외 항원 결합 도메인, 및 T 세포에 주 신호를 전달할 수 있는 세포내 신호전달 도메인, 그리고 임의로 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 숙주 세포.

#### 청구항 163

제 144 항 내지 제 162 항 중 어느 한 항에 있어서, 리간드를 더 암호화하는 숙주 세포.

#### 청구항 164

제 163 항에 있어서, 리간드가 CD200, CD47, PD-L1 또는 CD58인, 숙주 세포.

#### 청구항 165

제 144 항 내지 제 164 항 중 어느 한 항에 있어서, 내인성 수용체의 발현을 감소시키기 위한 siRNA를 더 암호화하는, 숙주 세포.

#### 청구항 166

제 165 항에 있어서, 내인성 수용체가 CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD95 (Fas) 또는 CD2를 포함하는 것인, 숙주 세포.

#### 청구항 167

제 1 항 내지 제 129 항 중 어느 한 항에 따른 융합 단백질을 대상에 투여하는 것을 포함하여 대상의 질병을 치료하는 방법.

#### 청구항 168

제 131 항 내지 제 143 항 중 어느 한 항에 따른 벡터를 대상에 투여하는 것을 포함하여 대상의 질병을 치료하는 방법.

#### 청구항 169

제 144 항 내지 제 166 항 중 어느 한 항에 따른 숙주 세포를 대상에 투여하는 것을 포함하여 대상의 질병을 치료하는 방법.

#### 청구항 170

제 167 항 내지 제 169 항 중 어느 한 항에 있어서, 질병이 바이러스 감염, 박테리아 감염, 암 및 자가면역 질환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 것인, 방법.

#### 청구항 171

제 167 항 내지 제 170 항 중 어느 한 항에 있어서, 대상이 인간인 방법.

#### 청구항 172

암을 치료하기 위한, 제 1 항 내지 제 129 항 중 어느 한 항에 따른 융합 단백질.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001]

본원은 세포외 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 면역조절 융합 단백질에 관한 것으로서, 표적의 결합이 T 세포와 같은 숙주 세포 내에서 조절 신호를 생성할 수 있다. 본원은 또한 그러한 면역조절 융합 단백질을 발현하는 면역 세포의, 암 또는 감염성 질환과 같은 특정 질환을 치료하기 위한 용도에 관한 것이다.

[0002]

본 출원과 관련된 서열 목록은 서류 사본 대신 텍스트 형식으로 제공되며, 본 명세서에서 참조로서 포함된다. 서열 목록이 포함된 텍스트 파일의 이름은 360056\_433WO\_SEQUENCE\_LISTING.txt이다. 텍스트 파일은 286KB이며, 2016년 3월 4일에 작성되었고, EFS-Web을 통해 전자 파일로 제출된다.

### 배경 기술

[0003]

T 세포 기반 면역 요법은 종양침윤 림프구 (TILs) 집단에서 종양 반응성 T 세포가 발견되었을 때 개발되기 시작했다 (Clark et al., *Cancer Res.* 29:705, 1969). 입양 T 세포 이식으로 알려진 한 가지 전략은 어떤 상황에서 종양 반응성을 위해 미리 선택된 종양침윤 림프구의 분리, IL-2의 존재 하에 항 CD3 및 항 CD28 항체에 의해 유도된 종양 반응성 T 세포의 클론 확장 및 확장된 세포 집단을 다시 종양 보유 환자에게 (화학 요법 및 IL-2의 반복 투여와 함께) 주입하는 것을 포함한다 (Dudley et al., *Science* 298 : 850, 2002). 종양침윤 림프구를 동반하는 이러한 방식의 입양 T 세포 치료법은 기술적으로 번거롭고, 흑색종 환자의 적은 부분만을 완치시킬 수 있으며, 다른 암에서는 거의 효과가 없다 (Besser et al., *Clin. Cancer Res.* 16:2646 , 2010).

[0004]

종양-반응성 T 세포 클론의 분리는, 예를 들면 백터 전달 시스템을 사용하여 T 세포에 도입될 수 있는 특정 항원에 특이적인 재조합 T 세포 수용체(TCRs)의 생성과 같은 다른 면역 치료 접근법의 개발을 유도하였는데, 이는 (인체 내의 인간 백혈구 항원(HLA) 분자로 알려진) 종양 세포 상에 발현된 주요조직 적합성 복합체(MHC) 분자에 의해 제시되는 종양 관련 웨티드와 같은 원하는 표적에 대한 특이성을 부여하였다. 다른 접근법은 키메릭 항원 수용체(CAR)로 불리는 합성 수용체를 도입하는데, 이는 일반적으로 항종양 치료와 관련하여 종양 특이적이거나 또는 관련된 항원에 결합할 수 있는 항원 결합 도메인을 포함하고, 이는 TCR 신호전달 도메인이나 또는 어떤 상황에서는 공동자극 신호전달 도메인과 같은 주신호전달 도메인과 같은 이펙터 도메인(effectector domain)을 포함하는 하나 또는 그 이상의 세포내 요소에 연결된다. TIL의 투여와 달리, 공학적인 TCR 또는 CAR T 세포 면역 요법에 대한 기본 절차는 일반적으로 종양 표적화 부위를 암호화하는 전이유전자로 인간 T 세포를 유전적으로 변형시키고, 생체 외(*ex vivo*)에서 재조합 T 세포를 증식시키고, 증식된 재조합 T 세포를 환자에게 수혈하는 것이다.

[0005]

재조합 TCR을 발현하는 T 세포를 이용한 입양 T 세포 요법은 특히 B 세포 암에서 유망한 임상적 이점을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 효과적인 T 세포 활성화는 종종 동시 공동자극 신호를 필요로 하거나, 그것으로 인해 강화된다(Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). 종양 미세 환경에서, 공동자극 분자는 일반적으로 하향 조절된다. 결과적으로 IL-2를 통한 외인성 자극은 일반적으로 암 항원에 특이적인 재조합 TCR을 발현하는 T 세포가 필요하다.

[0006]

T 세포의 활성화는 TCR이 항원제시 세포 (APC)상의 MHC에 존재하는 특정 웨티드와 결합 할 때 개시된다(Rossy et al., *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012). T 세포와 APC의 상호 작용 지점은, 중앙 cSMAC, 주변 pSMAC 및 원위 dSMAC를 포함하는 3 개의 동심 초분자 활성집락(SMACs)으로 구성되는 면역 시냅스가 된다(Rossy et al., *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012). cSMAC 내에서, 공동자극 수용체는 신호전달 분자를 모집하여 TCR 신호를 증폭시킨다. 이러한 공동자극 수용체는 CD28을 포함 할 수 있으며, 어떤 상황에서는 TCR을 갖는 마이크로 클러스터를 형성하여 활성화의 역치를 낮춘다(Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). T 세포에 의해 발현되는 막통과 단백질에 의한 cSMAC의 접근은 세포외 도메인의 크기에 의해 제한될 수 있다. 예를 들어, CD45는 큰 엑토도메인을 가지며 일반적으로 면역 시냅스에서 제외되어, TCR 신호전달을 억제하는 능력을 차단한다(James and Vale, *Nature* 487:64-69, 2012).

[0007]

암 또는 감염과 같은 다양한 질병을 치료하기 위해 숙주 세포에 대한 면역조절 신호를 제공하는 대안적인 조성물 및 방법에 대한 면역 요법 분야의 요구가 여전히 남아있다. 현재 개시된 실시예들은 이러한 요구들을 다루고, 다른 관련된 이점들을 제공한다.

## 발명의 내용

## 해결하려는 과제

[0008]

본원발명은 세포외 결합 도메인 및 세포내 신호전달 도메인을 함유하는 면역조절 융합 단백질에 관한 것으로서, 표적의 결합이 T 세포와 같은 숙주 세포 내에서 조절 신호를 생성할 수 있다. 본원은 또한 그러한 면역조절 융합 단백질을 발현하는 면역 세포의, 암 또는 감염성 질환과 같은 특정 질환을 치료하기 위한 용도를 제공하는 것을 목적으로 한다.

## 과제의 해결 수단

[0009]

특정 측면에서 본원의 개시는, 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인(binding domain)을 포함하는 세포외 요소(extracellular component), 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소(intracellular component), 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것이고, 융합 단백질::표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이다.

[0010]

일부 구현예에서, 융합 단백질과 표적 또는 상기 융합 단백질::표적 복합체(일반적으로 그러한 복합체의 세포외 부분(extracellular portion))의 부분 사이에 형성된 복합체의 길이 또는 공간적 거리는 특정 거리에 걸치거나, 예를 들어 몇몇 실시예들에서, 대략 일정 거리 이하이다. 일부 측면에서, 융합 단백질::표적 복합체(또는 일반적으로 그의 세포외 부분)의 거리는 약 50 nm 미만, 약 40 nm 미만, 약 30 nm 미만, 또는 약 20 nm 미만, 또는 약 15 nm 이하이다. 일부 구현예에서, 이는 약 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 nm이거나, 또는 약 14 또는 15 nm이다. 일부 측면에서, 거리는 TCR-펩티드 / MHC 복합체 또는 이러한 복합체의 세포 외 부분에 걸친 거리(또는 CD8, CD4, CD28, 및 이들의 각각의 결합 파트너 또는 리간드를 함유하는 복합체와 같은, 시냅스 내에 함유된 것으로 알려진 세포 외 부분에 걸친 공간적 거리)에 대하여, 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리이거나, 또는 막 최인접 부분(membrane proximal-most portion), 예를 들면 TCR의 세포외 도메인의 잔기와, 막 최인접 부분(membrane proximal-most portion), 예를 들면 MHC(예를 들면, MHC I 또는 MHC II와 같은 HLA) 분자의 잔기 사이의 거리와 동일한 거리, 거의 동일한 거리, 또는 실질적으로 동일한 거리이다. 일부 구현예에서, 복합체의 공간적 거리는 2개의 상이한 세포의 막 사이의 거리를 지칭하며, 여기서 제 1 세포 및 제 2 세포는 세포가 서로 근접할 때 막 사이에 복합체를 형성할 수 있는 결합 파트너를 표면 상에 각각 발현한다. 일부 측면에서, 거리는 TCR 및 MHC 분자와의 동족 상호 작용 사이에서 형성된 복합체의 세포외 부분에 의해 걸쳐진 거리와 동일하거나 거의 동일하거나 실질적으로 동일한 거리이다. 융합 단백질이 통상적으로 면역 시냅스에 진입할 수 있거나 또는 항원 수용체와 공동-편재할 수 있는 분자로부터 유래된 결합 도메인을 포함하는 경우와 같은 일부 양태에서, 그 거리는 분자 (융합 단백질에서 사용된 결합 도메인을 가짐) 및 그의 자연 결합 파트너 사이에서 형성된 복합체까지 걸치는 거리와 동일하거나 또는 이와 유사하다. 융합 단백질이 통상적으로 면역 시냅스에 진입할 수 없거나 또는 통상적으로 항원 수용체와 공동-편재할 수 없는 분자로부터 유래된 결합 도메인을 포함하는 경우와 같은 일부 측면에서, 그 거리는, 예를 들어 분자(융합 단백질에서 사용된 결합 도메인 또는 그 기능적 부분을 가짐) 및 그의 자연 결합 파트너 사이에서 형성된 복합체까지 걸치는 거리보다 작거나 또는 실질적으로 작은 거리와 다르다.

[0011]

일부 구현예에서, 본 명세서의 융합 단백질의 세포외 요소 내의 결합 도메인은 억제성 분자, 예를 들면 면역억제성 수용체 또는 면역관문(immune checkpoint) 분자와 같은 면역 억제성 분자에 억제성 신호를 전달할 수 있는 분자의 표적-결합 부분을 포함한다. 일부 측면에서, 그러한 분자는 당단백, 관문 계열 멤버(checkpoint family member)이다. 특정 구현예에서, 당단백, 관문 계열 멤버, B7 또는 B7 결합 분자가 아닌 것, 또는 CD28-B7-상과 멤버(예를 들어, CD28, CTLA4, ICOS, 또는 다른 B7 계열 결합 분자)가 아닌 것, 전형적인 당단백, 관문 계열 멤버로부터 유래된 결합 도메인을 포함하는 융합 단백질은 CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CTLA4 (CD152), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300, 또는 LPA5, 또는 그러한 분자의 결합 변이체를 포함한다. 일부 구현예에서, 본 명세서의 융합 단백질의 세포외 요소 내의 결합 도메인은 상기 임의의 것의 결합 파트너 또는 임의의 그러한 분자의 결합 변이체를 포함한다. 이러한 구현예의 일부 측면에서, 융합 단백질의 세포내 부분은, 공동자극과 같은 자극 신호를, T세포와 같은 림프구의, CD28, 41BB, ICOS, 또는 다른 공동자극 분자의 공동자극 영역에 전달할 수 있는 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 측면에서, 융합 단백질의 세포내 부분은, 세포외 결합 부분이 관문 또는 면역억제성 분자로부터 유래한 경우, 관문 또는 면역억제성 분자와 같은 억제성 분자의 세포내 신호전달 도메인을 포함하지 않는다. 일부 측면에서, 융합 단백질은 CD3 $\zeta$  신호전달 도메인과 같은 주 신호전달 도메인 또는 T 세포에 주 신호를 전달할 수 있는 다른 도메인을 포함하지 않는다.

[0012]

특정 측면에서, 세포외 요소 또는 이의 결합 부분은 CD200R 또는 이의 변이체의 결합 부분과 같이 CD200에 특이적으로 결합 할 수 있는 문자 또는 엑토도메인의 결합 도메인이거나 또는 이를 포함한다. 어떤 구현예에서, 결합 도메인은, SIRP 엑토도메인 또는 이의 CD47 결합 영역, SIRP $\alpha$  엑토도메인 또는 이의 CD47 결합 영역과 같이 CD47에 특이적으로 결합할 수 있는 문자 또는 엑토도메인의 결합 영역이거나 또는 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 결합 도메인은 PD-L1 또는 PD-L2 또는 LAG3 문자에 결합할 수 있다. 예시적인 표적은, 종양 세포 또는 종양 미세 환경과 같이, 본원에서 제공되는 융합 단백질 및 조성물로 치료 또는 개선되는 질환 또는 상태와 관련된 특정 세포 또는 조직에서 그의 발현이 증가되거나 상향 조절되는 하나 이상의 단백질일 수 있으며, 또는 종양과 같은 병이있는 조직에 침투하는 립프구와 같은 면역 세포 상에서 일반적으로 상향 조절되는 수용체에 의해 결합된다.

[0013]

일부 구현예에서, 세포외 요소는 하나 이상의 부가적인 영역 또는 도메인을 포함하는데, 예를 들면, 결합 도메인이 유도된 문자 이외의 문자 또는 결합 도메인이 동일성을 공유하는 문자 이외의 문자로부터 유래된 도메인을 포함한다. 하나 이상의 추가적인 세포외 도메인(들)은, 헌지의 전부 또는 부분, 또는 CH2 또는 CH3 도메인과 같은 불변부(constant region) 도메인, 또는 CD28과 같은 공동자극 수용체와 같은 다른 세포 표면 문자를 포함할 수 있는 면역글로불린 문자로부터 유래된 것과 같은 스페이서 영역을 포함할 수 있다. 추가적인 세포외 도메인(들)은 몇몇 측면에서, 예를 들면 2개 이상의 융합 단백질의 다량체화와 같은, 다른 문자와의 동종 또는 이종 이량체화를 촉진시킬 수 있는 이량체화 도메인 또는 서열과 같은 다량체화 도메인을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 이러한 도메인은 적어도 막통과-최 인접 시스테인(transmembrane-proximal-most cysteine), 및 일반적으로 그러한 시스테인과 막 사이의 세포외 부분 또는 그의 변형된 변이체를 포함하는 CD28 문자의 세포외 도메인의 일부를 포함한다. 일부 측면에서, 이러한 도메인은 서열 번호 32에 기재된 바와 같은 아미노산 서열, 또는 그의 일부, 또는 그에 대해 적어도 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 그의 변이체를 포함한다. 일부 측면들에서, 이러한 도메인은 다량체화를 촉진 또는 증진시키기 위해 포함될 수 있다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 CD200R의 세포외 부분(또는 그의 결합 도메인과 같은 그의 부분), SEQ ID NO: 25에 명시되거나 또는 SEQ ID NO: 2에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 CD200R의 세포외 부분, 또는 그의 CD200-결합 부분 또는 그의 변이체 또는 그의 결합 부분과 같은 세포외 부분과 같은 CD200-결합 도메인을 포함하는 세포외 요소를 포함하는 세포외 요소를 포함한다. 이러한 구현예의 일부 측면에서, 융합 단백질의 세포외 부분은 CD28의 세포외 영역의 일부를 추가로 포함하는데, 예를 들어 그의 약 9 내지 약 12개 아미노산(예를 들어, 9개 아미노산 또는 12개 아미노산)이고, 일부 측면에서 CD28 세포외 영역의 막-최인접(membrane-proximal-most) 시스테인 잔기를 포함한다. 이러한 일부 구현예에서, 세포외 영역의 CD200R 부분의 길이는 CD28 유래 부분 내의 추가적인 잔기의 수, 예를 들어 약 9 내지 약 12개 아미노산(예를 들어, 9개 아미노산 또는 12개 아미노산)에 대응되는 길이로 감소되거나, 또는 융합 단백질과 CD200 문자 사이의 복합체의 세포외 부분까지 걸치는 거리가, CD200R과 같은 인간 CD200R과 CD200 사이의 복합체의 복합체의 세포외 부분까지 걸치는 거리; 또는 동족 웨პ티드-MHC 복합체에 결합하는 MHC 문자(예를 들면, MHC I 또는 MHC II)와의 동족 상호작용에서의 TCR 사이의 복합체의 세포외 부분에 걸친 거리; 또는 면역 시냅스의 거리와 유사하거나, 실질적으로 유사하거나, 또는 동일한 아미노산의 충분한 수까지 감소된다. 일부 측면에서, 융합 단백질은 막통과 도메인을 추가로 포함하는데, 예를 들어 CD28 막통과, 예를 들면 SEQ ID NO: 4 또는 그의 부분에 명시된 서열에 의해 암호화되는 막통과 도메인이고, 또는 그의 변형된 버전인데, 예를 들어 추가적인 하전된 영역 또는 잔기 또는 친수성 잔기를 함유하여 문자간 상호 작용을 촉진하는 변형된 변이체이다. 일부 구현예에서, 단백질은 CD28 세포내 신호전달 도메인을 추가로 포함하는데, 예를 들어 CD28의 공동자극 도메인이고, 예를 들어 라이게이션(ligation)에 반응하여 하나 이상의 아답터 문자를 CD28에 모집할 수 있는 것이다. 일부 측면에서, CD28 세포내 도메인은 SEQ ID NO: 5의 뉴클레오티드 서열 또는 그의 기능적 변이체의 부분에 의해 암호화되는 서열이거나 또는 그를 포함한다.

[0014]

일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호 전달 도메인을 포함한다.

[0015]

일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의

막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인 및 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0016] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD200R의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0017] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0018] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD279(PD-1)의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0019] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD95(Fas)의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0020] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 TIM3의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0021] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 LAG3의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0022] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포외 요소와 세포내 요소를 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질에 관한 것으로서, 융합 단백질:표적 복합체의 길이는 면역 시냅스에서 막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친 것이고, 여기서 (a) 세포외 요소가 CD2의 세포외 부분을 포함하고, (b) 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, (c) 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0023] 특정 측면에서, 본원의 개시는 본 명세서에 기재된 바와 같은 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자에 관한 것이다.

[0024] 특정 측면에서, 본원의 개시는 본 명세서에 기재된 융합 단백질을 코딩하는 핵산 분자를 포함하는 벡터에 관한 것이다.

[0025] 다른 특정 측면에서, 본원의 개시는 본 명세서에 기재된 융합 단백질, 핵산 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포에 관한 것이다.

[0026] 다른 특정 측면에서, 증가된 면역세포 활성을 필요로하는 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함하는, 면역 세포의 활성을 증가시키는 방법이 제공된다.

[0027] 다른 측면에서, 본원의 개시는 증강된 또는 연장된 면역 세포 활성을 필요로하는 대상에게 본 명세서에 기재된

바와 같은 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함하는, 면역 반응을 증강 시키거나 연장시키는 방법에 관한 것이다.

[0028] 또 다른 측면에서, 본원의 개시는 증가된 면역 세포 활성을 필요로 하는 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함하는, 항원 특이적 T 세포 반응을 자극하는 방법을 제공한다.

[0029] 다른 측면에서, 본원의 개시는 면역억제 신호전달 경로를 억제하는 방법에 관한 것으로서, 이를 필요로 하는 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함한다.

[0030] 다른 측면에서, 본원의 개시는 암을 갖는 대상에게 치료 유효량의 본 명세서에 기재된 바와 같은 숙주 세포를 투여하는 것을 포함하는, 암을 치료하는 방법에 관한 것이다.

[0031] 다른 측면에서, 본원의 개시는 암세포의 면역 저항을 억제하는 방법에 관한 것으로, 이를 필요로 하는 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함한다.

[0032] 또 다른 측면에서, 본원의 개시는 종양을 갖는 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함하는 종양을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 투여된 숙주 세포는 면역억제성 종양 미세 환경에서 증식할 수 있다.

[0033] 또한 본원의 개시는 감염을 치료하는 방법을 제공하는데, 이는 감염된 대상에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 치료 유효량의 숙주 세포를 투여하는 것을 포함한다.

[0034] 본 발명의 이러한 측면 및 다른 측면은 다음의 상세한 설명 및 첨부된 도면을 참조하여 명백해진다.

### 발명의 효과

[0035] 본원발명의 면역조절 융합 단백질에서 표적과의 결합이 T 세포와 같은 숙주 세포 내에서 조절 신호를 생성할 수 있으며, 그러한 면역조절 융합 단백질을 발현하는 면역 세포는 암 또는 감염성 질환과 같은 특정 질환을 치료하기 위한 용도로 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0036] 도 1A 및 1B는 일차 뮤린(murine) CD8<sup>+</sup> T 세포에서 높은 수준으로 발현된 CD200R-CD28 구조체를 나타낸다. (A) 예시적인 CD200R-CD28 구조체들의 도식적 표현. "I"구조체는 CD200R 세포외("EC") 및 막통과(TM) 도메인과 CD28 세포내("IC") 신호전달 도메인(CD200Rtm-CD28)을 포함한다. 구조체"II"는 CD200R의 세포외 도메인과 CD28(CD200R-CD28tm)의 막통과 및 세포내 도메인을 포함한다. 또한, "III-V" 구조체는 다양체화를 촉진하고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스테인에 CD28의 세포외 도메인의 일부를 삽입한다. 임의의 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 1 내지 약 50개의 아미노산; 예를 들면, 본 명세서에서 개시된 예시적인 뮤린 구조체는 추가적인 9개의 아미노산을 함유하고, 여기에 개시된 예시적인 인간 구조체는 12개의 아미노산을 함유함)을 설명하기 위해, 일부 구조체는 세포외 또는 세포내 도메인(예를 들어, N 결합된 글라이실화 부위를 보존하는 CD200R)의 절단된 부분을 갖는다. 예를 들어, 구조체 IV는 3 아미노산에 의해 절단되는 CD200R의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 V는 절단된 9개의 아미노산인 CD200R의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 "I", "II" 및 "V"는 세포 사이(예를 들면, T 세포와 항원 제시 세포 사이)의 짧은 공간적 거리를 유지하며, cSMAC 내의 TCR과 공동-편재될 수 있으며, 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. (B) 항CD200R 항체에 의해 겸출된 TCR<sub>gag</sub> T 세포상의 뮤린 CD200R-CD28 구조체의 트랜스제닉 발현. 대조군 벡터는 녹색 형광 단백질(GFP)을 함유한다.

도 2A 내지 2G는 CD200R-CD28 구조체가 생체외에서(*in vitro*) CD200<sup>+</sup> 종양 표적 세포에 반응하여 증식, 축적 및 이팩터 기능을 촉진하고, 면역 시냅스에서 축적됨을 보여준다. 순수한 TCR<sub>gag</sub> 마우스로부터 유래된 비장 세포를 항CD3, 항CD28 및 재조합 인간 IL-2(100U/ml)로 생체외에서(*in vitro*) 자극하고, 레트로바이러스 상등액으로 2 일 동안 형질도입시켰다. 세포는 조사된 FBL과 비장 세포로 7 일마다 재자극되었고, rhIL-2(50 U/mL)로 3회까지 자극하여 배양하였다. T 세포를 마지막 자극 후 5 내지 7일 동안 분석에 사용하였다. (A) CellTrace 바이올렛 희석으로 측정한 CD200R-CD28 및 GFP 제어 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 증식. T 세포를 3 일 동안 CD200<sup>-</sup> FBL(상부 패널) 또는 CD200<sup>+</sup> FBL(하부 패널)로 자극 하였다. (B) 조사된 CD200<sup>+</sup> FBL 및 비장 세포를 이용하여 매주 주기로 자극하면서 비-형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포와 공동 배양하는 동안의 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 선택적인 증식/생존. (C)

형질전환된 T 세포의 풍부화. 조사된 CD200<sup>+</sup> 종양 세포를 이용한 반복적인 재조합은 비어있는 GFP 대조군 벡터로 형질 도입된 야생형 T 세포와 비교하여 CD200R-9aas-CD28Cys로 형질도입된 세포를 풍부하게 한다. (D) T 세포: FBL 시냅스에서의 CD200R 및 CD200 신호 강도 증가. 지질 뗏목은 면역 시냅스 (I)에서 증가되었다. CD200R-9aas-CD28Cys 융합 단백질은 지질 뗏목과 공동-편재하는데, 융합 단백질이 면역 시냅스(III, IV) 내에서 집중됨을 나타낸다. (E) CD200R-CD28<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 세포는 생체외(*in vitro*)에서 CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 용해시키는 향상된 능력을 나타낸다. 표적 종양 세포는 지시된 바와 같이 형광 염료 5,6- 카복시플루오레신 디아세테이트 석신이미딜 에스테르(carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, CFSE)의 다른 희석으로 표지되었다. 표시된 CD200R-CD28 융합 단백질 또는 빈 벡터 대조군으로 형질전환된 이펙터 TCR<sub>gag</sub> T 세포를 CD200<sup>+</sup> FBL(CFSE<sup>hi</sup>) 및 비특이적 EL4(CFSE<sup>lo</sup>) 대조군의 1:1 혼합 배지를 이용하여 표적 비율에 대한 지시된 이펙터에서 5시간 동안 배양하였다. FBL과 대조 종양 세포의 합계에 대한 FBL 백분율을 유세포 분석기로 측정하였다. T 세포를와 함이용하여 배양된 FBL의 백분율을 T 세포없이 배양된 FBL의 백분율로 나누어서 백분율을 용해를 결정하였다. (F) (G)에서 CFSE 분석을 위한 표적 종양 세포. 표적 종양 세포를 형광 염료 CellTrace Violet (CTV) 또는 CFSE의 상이한 희석액으로 표지 하였다. EL4 세포(CTV<sup>+</sup>), CD200<sup>+</sup> FBL(CFSE<sup>hi</sup>) 및 비특이적 EL4(CFSE<sup>lo</sup>) 대조군 표적의 1:1:1 혼합을 생성하였다. (G) CFSE 세포독성 분석. CD200R-CD28 수용체 또는 GFP 대조군 벡터로 TCR<sub>gag</sub> T 세포를 형질도입시켰다. 이펙터 TCR<sub>gag</sub> T 세포를 CD200-FBL 또는 CD200<sup>+</sup> FBL과 비특이적 EL4 대조 표적의 1:1 혼합을 이용하여 표적 비율에 대한 지시된 이펙터에서 4시간 동안 배양하였다. FBL과 대조군 종양 세포의 합계에 대한 FBL 백분율을 유세포 분석기로 측정하였다. T 세포와 함께 배양된 FBL의 백분율을 T 세포없이 배양된 FBL의 백분율로 나누어서 백분율을 용해를 결정하였다.

도 3A 내지 3D는 CD200R-9aas-CD28Cys로 형질도입된 T 세포가 사이토산(Cytoxin) 처리된 FBL 보유 마우스에 주사한 후 생체 내(*in vivo*) 종양 유발(tumor challenge)에 반응하여 우선적으로 축적되고, 이펙터 표현형과 일치하는 표면 단백질을 발현한다는 것을 보여준다. 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포를 실시예 2에 기재된 바와 같이 생성하였다. (A) 실험 개요. C57BL/6 마우스에게  $4 \times 10^6$  CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD10R-9aas-CD28Cys(Thy1.1 동성접합체(homozygous)) 및 eGFP 대조군(Thy1.1 이형접합체(heterozygous)) TCR<sub>gag</sub> T 세포를 사이토산 처리된 FBL 보유 B6 마우스에  $4 \times 10^6$  세포/마우스로 공동주입하였다. IL-2는 2일마다 투여되었다( $2 \times 10^4$  U/용량). 8일째에 T 세포 전달 후, 마우스를 안락사시키고 비장 및 사타구니 림프절을 수확하였다. (B) CD200R-9aas-CD28Cys TCR<sub>gag</sub> T 세포는 FBL에 반응하여 비장에 축적된다. (LN = 림프절; Sp1 = 비장). (C) CD200R-9aas-CD28Cys를 발현하도록 형질도입된 T 세포, 빈 벡터로 형질도입된 T 세포 및 내인성 T 세포를 전달한 후 3일째의 표면 단백질의 비교. CD200R-9aas-CD28Cys TCR<sub>gag</sub> T 세포는 대조군 TCR<sub>gag</sub> T 세포와 비교하여 감소된 CD62L을 발현하였으며, 이는 이펙터 T 세포 표현형을 시사한다. (D) CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> T 세포를 발현하도록 형질도입된 세포, 빈 벡터로 형질도입된 T 세포 및 내인성 T 세포의 전달한 후 15일째의 표면 단백질의 비교. CD200R-9aas-CD28Cys TCR<sub>gag</sub> T 세포는 대조군 TCR<sub>gag</sub> T 세포와 비교하여 비슷한 수준의 세포 표면 단백질을 발현한다.

도 4A 내지 도 4D는 CD200R-CD28-형질도입된 T 세포를 이용한 입양면역요법이 과종성 백혈병(disseminated leukemia)을 박멸할 수 있음을 보여준다. (A) 실험 개요. C57BL/6 마우스에게  $4 \times 10^6$  CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD200R-CD28tm, CD200R-CD28Cys, CD200R-9aas-CD28Cys 또는 eGFP TCR<sub>gag</sub> T 세포를  $10^5$  세포/마우스로 Cy-처리된 FBL 보유 마우스에 i.p. 주사(injected i.p.)하였다. IL-2를 표시된 마우스의 집단(cohort)에 2일마다 투여하였다( $2 \times 10^4$  U/복용량). (B) 유세포 분석기로 측정한, IL-2로 주사한 날에 CD200R-CD28tm으로 형질도입된 T 세포 및 비형질도입된 T 세포에서의 세포 표면 단백질의 발현의 대표적인 예. (C) IL-2 주사의 존재하에 처리된 마우스의 생존. (D) IL-2 주사 없이 처리된 마우스의 생존. CD200R-9aas-CD28Cys TCR<sub>gag</sub> T 세포의 전달은 IL-2 주사가 없는 경우의 생존을 유의하게 개선시켰다( $p < 0.05$ , log-rank Mantel-Cox test).

도 5A 내지 5C는 CD200R-9aas-CD28Cys를 발현하는 T 세포가 검출가능한 자가면역 간 손상을 유도하거나 또는 정상 조직을 침투하지 않음을 나타낸다. (A) 실험 개요. 사이토산으로 처리된 Alb/Gag 마우스에게  $4 \times 10^6$  CD200<sup>+</sup>

FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD200R-9aas-CD28Cys 및 eGFP TCR<sub>gag</sub> T 세포를  $10^5$  세포/마우스로 사이토산 처리된 FBL 보유 마우스에 i.p. 주사(injected i.p.)하였다. IL-2를 표시된 마우스의 집단(cohort)에 2일마다 투여하였다( $2 \times 10^4$  U/복용량). 전달 후 3일 및 7일째, 간 손상은 간 효소인 아스파르트산 아미노기전달효소(AST) 및 알라닌 아미노기전달효소(ALT)의 혈청 수준의 정량화에 의해 평가되었다. (B) T 세포를 받지 않은 마우스, GFP를 발현하는 대조군 T 세포 또는 CD200R-9aas-CD28Cys를 발현하는 T 세포를 전달한 후 3일 및 7일째에 측정된 AST 및 ALT 수준은 처리에 의해 변하지 않았다. (C) 정상 조직에 대한 T 세포 침투의 평가. T 세포 마커 CD3(왼쪽 패널)에 특이적인 항체를 사용하여 간 조직에서의 T 세포의 제한된 존재가 관찰되었으며, CD200R-9aas-CD28Cys TCR<sub>gag</sub> 또는 대조군 TCR<sub>gag</sub> T 세포(오른쪽 패널)의 수용자간에 유의한 차이는 없었다.

도 6A 내지도 6D는 4-1BB 공동자극 신호전달 도메인이 생체외(*in vitro*)에서 형질도입된 T 세포의 축적 및 이펙터 기능을 촉진하고, CD200<sup>+</sup> 종양 표적 세포에 반응하여 형질도입된 T 세포의 종양 보유 수용자의 생존을 촉진한다는 것을 보여준다. (A) CD200R-CD28("V"), -4-1BB("VI") 및 -CD28-4-1BB("VII") 구조체의 도식적 표현. (B) 조사된 CD200<sup>+</sup> FBL 및 비장 세포를 이용하여 주 단위로 자극한 후 비형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포에 대해 상대적인 형질전환된 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 증식. CD200R-4-1BB 및 CD200R-CD28-4-1BB는 또한 생체 외(*in vitro*)에서 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진한다. (C) CD200R-9aas-4-1BB<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 세포는 표준 CFSE 기반의 세포독성 분석을 사용하여 생체외(*in vitro*)에서 대조군과 비교하여 CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 용해시키는 향상된 능력을 보였다. FBL과 대조 종양 세포의 합계에 대한 FBL 백분율은 유세포 분석기에 의해 측정되었다. T 세포로 배양한 FBL의 백분율을 T 세포 없이 배양한 FBL의 백분율로 나눔으로써 용해율을 결정하였다. (D) CD200R-41BB 형질도입 T 세포는 또한 대조군에 비해 생존을 촉진한다. C57BL/6 마우스에게  $4 \times 10^6$  CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD200R-9aas-CD28, CD200R-9aas-4-1BB, CD200R-9aas-CD28-4-1BB 또는 eGFP TCR<sub>gag</sub> T 세포를 사이토산으로 처리한 FBL 보유 마우스에  $10^5$  세포/마우스로 i.p. 주사하였다.

도 7A 내지 도 7D는 WT1 특이적인 TCR 및 CD200Rtm-CD28 융합 단백질을 발현시키기 위해 형질도입된 인간 1차 T 세포가, CD200을 발현하는 종양 세포에 반응하여 CD200을 발현하고 증가된 사이토카인 생성을 나타내는 표적 세포에 대해 증대된 증식을 나타내는 것을 보여준다. (A) WT1<sub>126</sub> 특이적 TCR, C4 및 CD200Rtm-CD28의 발현. (B) T2 및 K562 세포에서의 CD200의 발현. T2 세포는 낮은 수준의 내인성 CD200 발현을 나타낸다. (C) CFSE에 의해 지시된 T 세포의 증식. 항원에 반응하여 증식하는 세포는 CFSE 형광 강도를 감소시킨다. C4와 IFP 모두로 형질도입된 T 세포는 C4로만 형질도입된 T 세포와 비교하여 낮은 수준의 CD200을 발현하는 표적 세포에 대한 증식을 증가시킨다. (D) 유세포 분석기로 측정한 CD200dim 종양 세포에 대한 노출에 반응하는 사이토카인 생산. TCR C4만으로 형질도입된 대조군 T 세포에 대하여, C4와 IFP CD200Rtm-CD28로 형질도입된 T 세포는 증가된 사이토카인 생산을 보여준다.

도 8A 내지 도 8E는 SIRP<sub>α</sub> 세포외 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질이 생체 외에서(*in vitro*) 형질도입된 T 세포의 축적 및 증식을 촉진한다는 것을 보여준다. (A) 예시적인 SIRP<sub>α</sub>-CD28 구조체의 개략적인 표현. 구조체 "I"은 SIRP<sub>α</sub> 세포외("EC") 및 막통파("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(SIRP<sub>α</sub>tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 SIRP<sub>α</sub>의 세포외 도메인과 CD28의 막통파 및 세포내 도메인(SIRP<sub>α</sub>-CD28tm)을 포함한다. 구조체 "III-VI"는 또한 다양체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 CD28의 세포외 도메인의 부분을 막통파-인접 시스테인에 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 뮤린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 일부 구조체는 세포외 또는 세포내 도메인의 절단된 부분을 갖는다(예를 들어, N 연결된 글리코실화 부위를 보존하는 SIRP<sub>α</sub>). 구조체 IV는 N 연결된 글리코실화 부위를 보존하기 위해 절단된 6개의 아미노산인 SIRP<sub>α</sub>의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 V는 절단된 9개의 아미노산인 절단된 SIRP<sub>α</sub> 부분을 가지고 있다. 구조체 VI는 절단된 23개의 아미노산인 SIRP<sub>α</sub>의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 "I", "II" 및 "V"는 세포들 사이의 짧은 공간적 거리(예를 들면, T 세포와 항원 제시 세포 사이)를 유지하며 cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재하여 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. (B) 조사된 SIRP<sub>α</sub><sup>+</sup> FBL 및 비장 세포를 이용하여 주 단위로 자극한 후 비형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포에 대해 상대적인 형질전환된 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 증식. SIRP<sub>α</sub>-CD28 구조체는 증강된 축적을 보여주는 SIRP<sub>α</sub>-9aas-CD28Cys와 함께, 생체 외(*in vitro*)에서 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진시킨다. (C) CellTrace

Violet (CTV) 희석 증식에서 SIRP $\alpha$ -CD28 구조체로 형질도입된 T 세포의 증식. T 세포-종양 세포간 거리를 유지하도록 조작된 SIRP $\alpha$ -CD28 구조체를 발현하는 T 세포는 비형질도입된 T 세포와 비교하여 증강된 증식을 나타냈다. (D) CD47 $^+$  종양 세포는 SIRP $\alpha$ tm-CD28 또는 SIRP $\alpha$ -9aas-CD28Cys 구조체를 발현하도록 형질도입된 SIRP $\alpha$ -CD28 $^+$  T 세포와 함께 공배양된 후 사멸되었다. 대조적으로, 종양 세포는 빈 벡터 또는 세포내 도메인인 없는 절단된 SIRP $\alpha$ 를 받은 T 세포와 함께 배양되었을 때 박멸되지 않았다. (E) CD47 $^+$  종양 세포의 살상을 정량화하기 위해 사용된 IncuCyte 분석 결과. CD47 $^+$  FBL 종양 세포는 mCherry로 형질도입되었다. 빨간색 신호의 손실은 종양 세포의 살상을 나타낸다. 종양 세포의 살상을 10:1, 2:1 및 0.4:1의 이펙터:표적 비율에서 테스트하였다. SIRP $\alpha$ -CD28 $^+$  T 세포는 시험된 가장 낮은 이펙터 대 표적 비율에서도 CD47 $^+$  종양 세포를 살상하였다.

도 9A 및 9B는 PD-1 세포외 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질이 생체 외(*in vitro*)에서 사이토카인 생성을 촉진한다는 것을 보여준다. (A) 예시적인 PD-1-CD28 구조체의 도식적 표현. 구조체 "I"은 PD-1 세포외("EC") 및 막통과("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(PD1tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 PD-1의 세포외 도메인과 CD28(PD1-CD28tm)의 막통과 및 세포내 도메인을 포함한다. 구조체 "III-VI"는 또한 다양체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스테인에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 뮤린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV-VII는 PD-1의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 IV는 절단된 9개의 아미노산인 PD-1의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 V는 절단된 12개의 아미노산인 PD-1의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 VI는 절단된 15개의 아미노산인 PD-1의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 VII는 절단된 21개의 아미노산인 PD-1의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 "I", "II" 및 "V"는 세포들 사이의 짧은 공간적 거리(예를 들면, T 세포와 항원 제시 세포 사이)를 유지하며, cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재하여 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. (B) PD1-CD28 $^+$  T 세포는 Brefeldin A 존재 하에서 PD-1 리간드, PD-L1 및 PD-L2를 내인성으로 발현시키는 FBL 세포를 이용한 5시간 동안의 자극에 반응하여 증가된 사이토카인 생산을 나타내었다. 자극된 T 세포는 유세포 분석기에 의해 이펙터 사이토카인, IFN $\gamma$  및 TNF $\alpha$ 의 세포 내 발현에 대해 평가되었다.

도 10은 TCR C4와 PD-1 IFP(PD1-12aas-CD28Cys, PD1-15aas-CD28Cys 또는 PD1-21aas-CD28Cys)의 공동발현을 보여준다. C4 및 PD1-12aas-CD28Cys 또는 PD1-15aas-CD28Cys로 형질도입된 T 세포는 높은 형질전환 효율 및 두 단백질의 발현을 나타냈다.

도 11A 내지 11C는 Fas 세포외 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질이 조사된 FBL 세포를 이용한 자극에서 생체외(*in vitro*)에서 측정된다는 것을 보여준다. (A) 예시적인 Fas-CD28 구조체의 도식적 표현. 구조체 "I"은 Fas 세포외("EC") 및 막통과("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(Fastm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 Fas의 세포외 도메인과 CD28(Fas-CD28tm)의 막통과 및 세포내 도메인을 포함한다. 구조체 "III" 및 "VI"는 또한 다양체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스테인에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 뮤린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV는 Fas의 절단된 부분을 가지며, 여기서 Fas 세포외 도메인은 절단된 9개의 아미노산이다. 구조체 "I", "II" 및 "IV"는 세포들 사이의 짧은 공간적 거리(예를 들면, T 세포와 항원 제시 세포 사이)를 유지하며, cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재하여 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. (B) 조사된 FBL 세포로 다중 자극을 통해 Fas 구조체로 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 측정. 모든 구조체는 대조군 T 세포에 비해 T 세포의 측정을 촉진시켰다. (C) (전장(full-length, FL) Fas는 아닌) Fas-CD28 구조체의 발현은 생체외(*in vitro*)에서 다중 자극시 T 세포의 생존 또는 증식을 촉진시켰다.

도 12A 및 12B는 LAG3 세포외 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합단백질의 구조 및 발현을 보여준다. (A) 예시적인 LAG3-CD28 구조체의 도식적 표현. 구조체 "I"은 LAG3 세포외("EC") 및 막통과("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(LAG3tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 LAG3의 세포외 도메인과 CD28(LAG3-CD28tm)의 막통과 및 세포내 도메인을 포함한다. 구조체 "III" 및 "VI"는 또한 다양체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스테인에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 뮤린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV는 LAG3의 절단된 부분을 가지며, 여기서 LAG3 세포외 도메인은 절단된 9개의 아미노산이다. 구조체 "I", "II" 및 "IV"는 세포들 사이의 짧은 공간적 거리(예를 들면, T 세포와

항원 제시 세포 사이)를 유지하며, cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재하여 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다.

(B) 항LAG3 항체 염색 및 유세포 분석기에 의해 측정된 쥐 CD8<sup>+</sup> T 세포에 의한 LAG3-CD28 구조체의 발현. 빈 벡터를 받은 대조군 T 세포와 대조적으로, LAG3-CD28 구조체(LAG3tm-CD28; LAG3-CD28tm; LAG3-CD28Cys; LAG3-9aas-CD28Cys)를 발현하도록 형질전환된 T 세포는 구조체의 발현을 나타냈다.

도 13A 및 13B는 TIM3 세포외 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질의 구조 및 발현을 도시한다. (A) 예시적인 TIM3-CD28 구조체의 도식적 표현. 구조체 "I"은 TIM3 세포외("EC") 및 막통과 ("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(TIM3tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 TIM3의 세포외 도메인과 CD28(TIM3-CD28tm)의 막통과 및 세포내 도메인을 포함한다. 구조체 "III" 및 "VI"는 또한 다량체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스테인에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 뮤린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV는 TIM3의 절단된 부분을 가지며, 여기서 TIM3 세포외 도메인은 절단된 9개의 아미노산이다. 구조체 "I", "II" 및 "IV"는 세포들 사이의 짧은 공간적 거리(예를 들면, T 세포와 항원 제시 세포 사이)를 유지하며, cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재하여 강력한 공동자극 신호를 전달할 수 있다. (B) 항TIM3 항체 염색 및 유세포 분석기에 의해 측정된 쥐 CD8<sup>+</sup> T 세포에 의한 TIM3-CD28 구조체의 발현. 빈 벡터를 받은 대조군 T 세포와 대조적으로, TIM3-CD28 구조체(TIM3tm-CD28; TIM3-CD28tm; TIM3-CD28Cys; TIM3-9aas-CD28Cys)를 발현하도록 형질전환된 T 세포는 구조체의 발현을 나타냈다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037]

본원의 개시는 면역 세포와 같은 숙주 세포에서 신호전달을 조절하는 융합 단백질을 제공한다. 예를 들어, 본 개시의 융합 단백질은 인간 T 세포에서 활성화 또는 공동자극 신호를 제공할 수 있으며, 여기서 T 세포는 선호하는 항원 특이적 TCR을 갖도록 임의로 조작될 수 있다. 이러한 면역 조절 단백질(IFP)은 편재적으로 발현되는 표적 또는 비정상 세포(예를 들면, 암 세포)에서 일반적으로 상향 조절되거나 과발현되는 표적과 상호 작용할 수 있다. 그러한 IFP는 세포외 결합 도메인과 세포내 신호전달 도메인을 갖는다. 활성화된 신호를 생성하는 본원에 개시된 조작된 TCR(예를 들면, 고친화성 TCR) 및 융합 단백질로 T 세포를 형질도입함으로써, T 세포의 특정 구현에는, 예를 들어 종양 세포와의 상호 작용시 외인성 공동 자극을 더 이상 필요로 하지 않을 수 있다.

[0038]

특정 측면에서, 본원의 개시는 IFP를 포함하는 숙주 세포(예를 들어, T 세포, 수지상 세포, NK 세포 등과 같은 면역 세포), IFP를 암호화하는 벡터 및 대상 내의 질병(예를 들면, 암, 전염병)의 치료를 포함하는, 다양한 치료 응용 분야를 위한 IFP를 포함하는 IFP를 포함하는 T 세포를 활성화시키는 방법을 제공한다.

[0039]

본 개시를 보다 상세히 설명하기 전에, 여기에서 사용되는 특정 용어의 정의를 제공하는 것이 그의 이해에 도움이 될 수 있다. 추가적인 정의는 이 개시 내용 전반에 걸쳐 명시된다.

[0040]

본 명세서에서, 임의의 농도 범위, 퍼센티지 범위, 비율 범위 또는 정수 범위는 달리 언급되지 않는 한 인용된 범위 내의 임의의 정수의 값을 포함하는 것으로 이해되어야 하며, 적절할 경우, 그 일부(예를 들어, 정수의 10분의 1 및 100분의 1)도 포함한다. 또한, 중합체 서브 유닛, 크기 또는 두께와 같은 임의의 물리적 특징과 관련하여 본원에서 인용된 임의의 수치 범위는 달리 언급되지 않는 한 상기 열거된 범위 내의 임의의 정수를 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, "약"이라는 용어는 달리 지시되지 않는 한, 표시된 범위, 값 또는 구조의 ±20%를 의미한다. 본 명세서에서 사용된 용어 "하나의"는 열거된 구성 요소 중 "하나 이상"을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 대체물(예를 들어, "또는")의 사용은 대안들 중 하나, 모두 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 용어 "포함하다", "구비하다" 및 "포함하다"는 동의어로 사용되며, 용어 및 그의 변형은 비한정적으로 해석되도록 의도된 것이다.

[0041]

"본질적으로 이루어진(consisting essentially of)"이라는 용어는 청구 범위를 특정 물질 또는 단계, 또는 청구된 발명의 기본 특성에 실질적으로 영향을 미치지 않는 범위로 제한한다. 예를 들어, 단백질 도메인, 영역 또는 모듈(예를 들면, 결합 도메인, 헌지 영역, 링커 모듈) 또는 단백질 (하나 이상의 도메인, 영역 또는 모듈을 가질 수 있음)은, 도메인, 영역 또는 모듈 또는 단백질의 아미노산 서열이 확장, 결실, 돌연변이 또는 이들의 임의의 조합(예를 들면, 아미노- 또는 카르복시- 말단 또는 도메인 사이의 아미노산)을 포함하고, 그와 결합하여 도메인, 영역 또는 모듈 또는 단백질의 길이의 최대 20%(예를 들면, 최대 15%, 10%, 8%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 또는 1%)까지 기여하고, 도메인(들), 영역(들), 모듈(들) 또는 단백질(들) (예를 들면 결합 단백질의 표적 결합 친화도)의 활성에 실질적으로(50% 넘게, 예를 들어 40%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 또는 1% 넘지 않게) 영

향을 끼치지 않는 경우에, 특정 필수 아미노산 서열로 "본질적으로 이루어진다"

[0042] 본 명세서에 사용된 바와 같이, "이종의" 또는 "비내인성" 또는 "외인성"은 숙주 세포 또는 대상에 고유하지 않은 임의의 유전자, 단백질, 화합물, 분자 또는 활성을 지칭하거나, 또는 천연 분자와 변이된 분자 사이에서 구조, 활성 또는 둘 모두가 상이하도록 변경되거나 변이된 숙주 세포 또는 숙주에 고유한 임의의 유전자, 단백질, 화합물, 분자 또는 활성이다.

[0043] 특정 구현예에서, 이종성, 비내인성 또는 외인성 분자(예를 들면, 수용체, 리간드)는 숙주 세포나 대상에 대해 내인성이 아닐 수 있고, 대신 그러한 분자를 암호화하는 핵산은 컨주케이션, 형질전환, 형질주입, 일렉트로포테이션 등에 의해 숙주 세포에 부가될 수 있고, 여기서 부가된 핵산 분자는 숙주 세포 계놈에 통합되거나 염색체 외 유전 물질(extra-chromosomal genetic material)(예를 들면, 플라스미드 또는 다른 자기 복제 벡터)로 존재할 수 있다.

[0044] 단어 "상동성(homologous)" 또는 "동족체 (homolog)"는 숙주 세포, 종 또는 균주로부터 발견되거나 이로부터 유래된 분자 또는 활성을 의미한다. 예를 들어, 이종 또는 외인성 분자 또는 유전자를 암호화하는 분자는 각각 천연 숙주 또는 숙주 세포 분자 또는 분자를 암호화하는 유전자와 상동성일 수 있지만, 변경된 구조, 서열, 벨현수준 또는 이들의 조합을 가질 수 있다. 비내인성 분자는 동일한 종, 상이한 종 또는 이들의 조합으로부터 유래될 수 있다.

[0045] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "내인성" 또는 "천연, 자연"이란 용어는 숙주 또는 숙주 세포에 정상적으로 존재하며 조작된 변형이 없는 유전자, 단백질, 화합물, 분자 또는 활성을 의미한다.

[0046] 본원에서 사용되는 "결합 도메인"( "결합 영역" 또는 "결합 잔기"라고도 함)은 특이적으로 표적 분자(예를 들면, CD200, CD47, CD19, CD20, CD22, ROR1, 메소텔린, PD-L1, PD-L2, PSMA, WT-1, 사이클린-A1)에 비공유적으로 연관, 연합 또는 결합하는 능력을 갖는, 웨პ티드, 올리고 웨პ티드, 폴리웨პ티드 또는 단백질과 같은 분자를 의미한다. 결합 도메인은 생물학적 분자 또는 기타 관심 대상 표적 또는 그 결합 단백질에 대한 임의의 자연 발생적, 합성적, 반합성 또는 재조합적으로 생성된 결합 파트너를 포함한다. 일부 구현예에서, 결합 도메인은 항원 또는 T 세포 수용체 (TCR) 또는 기능적 결합 도메인 또는 이의 항원-결합 단편과 같은 항원-결합 도메인이다. 예시적인 결합 도메인은 수용체 엑토도메인(예를 들면, CD200R, PD-1, CTLA4, BTLA, CD2, Fas의 그것들) 또는 그의 결합 부분, 리간드(예를 들면, IL35와 같은 사이토카인, 케모카인) 또는 그의 결합 부분, 단일사슬 항체 가변 영역(예를 들어, 도메인 항체, sFv, scFv, Fab) 또는 그의 결합 부분, 단일사슬 TCRs (scTCRs)과 같은 T 세포 수용체(TCRs)의 항원-결합 영역, 또는 생물학적 분자에 결합하는 특이적 능력을 위해 선택된 합성 폴리웨პ티드를 포함한다. 일부 구현예에서, "특이적 결합"은  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 과 같거나 그보다 큰 친화도 또는  $K_a$  (즉,  $1/M$ 의 단위를 갖는, 특정 결합 상호 작용의 평형상수)를 갖는 표적 분자에 결합 도메인의 연관 또는 연합, 또는 그의 융합 단백질을 지칭하거나, 또는 샘플 내의 다른 분자나 성분과 유의하게 연관 또는 연합하지 않으면서 그러한 표적 분자와 결합하는 것을 지칭한다. 결합 도메인(또는 그의 융합 단백질)은 "고친화성" 결합 도메인(또는 그의 융합 단백질) 또는 "저친화성" 결합 도메인(또는 그의 융합 단백질)으로 분류될 수 있다.

[0047] "고친화성" 결합 도메인은 적어도  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , 적어도  $10^8 \text{ M}^{-1}$ , 적어도  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , 적어도  $10^{10} \text{ M}^{-1}$ , 적어도  $10^{11} \text{ M}^{-1}$ , 적어도  $10^{12} \text{ M}^{-1}$ , 또는 적어도  $10^{13} \text{ M}^{-1}$ 의  $K_a$ 를 갖는 결합 도메인을 지칭한다. "저친화성" 결합 도메인은 최대  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , 최대  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , 최대  $10^5 \text{ M}^{-1}$ 의  $K_a$ 를 갖는 결합 도메인을 지칭한다. 다르게는, 친화도는 M 단위 (예를 들어,  $10^{-5} \text{ M}$  내지  $10^{-13} \text{ M}$ )를 갖는 특정 결합 상호 작용의 평형 해리 상수( $K_d$ )로서 정의될 수 있다. 특정 구현예에서, 결합 도메인은 "강화된 친화도"를 가질 수 있는이데, 이는 야생형 (또는 모체) 결합 도메인보다 표적 항원에 대해 보다 강한 결합을 갖는 선택된 또는 조작된 결합 도메인을 지칭한다. 예를 들어, 증강된 친화성은 야생형 결합 도메인보다 높은 표적 항원에 대한  $K_a$ (평형 연관 상수), 또는 야생형 결합 도메인보다 낮은 표적 항원에 대한  $K_d$ (해리 상수), 또는 야생형 결합 도메인보다 낮은 표적 항원에 대한 오프-레이트(off-rate,  $K_{off}$ )로 인해 야기될 수 있다. 웨스턴 블랏(Western blot), ELISA 및 비아코어(Biacore®) 분석과 같은 결합 도메인 또는 융합 단백질 친화성을 결정할뿐만 아니라, 특정 표적에 특이적으로 결합하는 본원의 결합 도메인을 식별하기 위한 다양한 분석이 공지되어 있다(예를 들면, Scatchard *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51:660, 1949; 및 U.S. Patent Nos. 5,283,173, 5,468,614, 또는 그와 동등한 것 참조).

[0048] 본 명세서에서, "융합 단백질"은 단일 사슬 내에서 적어도 2개의 구별되는 도메인을 갖는 폴리웨პ티드를 지칭하

고, 여기서 도메인은 단백질내에서 자연적으로 함께 발견되지 않는다. 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 PCR, 재조합 조작 등을 사용하여 제조될 수 있거나, 또는 이러한 융합 단백질은 단백질 합성 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 융합 단백질은 태그 또는 생체 활성 분자와 같은 다른 성분(예를 들어, 공유 결합된)을 추가로 함유할 수 있다. 특정 구현예에서, 숙주 세포(예를 들어, T 세포)에 의해 발현되거나 생성된 융합 단백질은 세포 표면에 위치하는데, 여기서 융합 단백질은 세포 외적으로 위치하는 융합 단백질의 부분(예를 들어, 결합 도메인을 포함) 및 세포 내적으로 위치하는 융합 단백질의 부분(예를 들어, 신호전달 도메인을 포함)과 함께 세포 막에 고정된다.

[0049] 본원에서 사용되는 "소수성 요소"는 세포막에서 열역학적으로 안정한 3차원 구조를 갖는 임의의 아미노산 서열을 의미하며, 일반적으로 길이의 범위는 약 15개 내지 약 30개 아미노산이다. 소수성 요소의 구조는 알파 나선, 베타 배럴, 베타 시트, 베타 나선 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 소수성 요소는 세포막 내로 삽입되거나 세포막에 결칠 수 있는 막통과 단백질의 부분인 공지의 막통과 단백질로부터 유래된 "막통과 도메인"으로 구성된다. 추가적인 구현예에서, 소수성 요소 또는 막통과 도메인은 융합 단백질의 세포외 및 세포내 부분 사이에 배치되어 이들을 연결할 수 있다. 또한, 소수성 요소는 문자간 상호 작용을 용이하게하기 위해 하전된 영역 또는 친수성 잔기를 함유하도록 변형될 수 있다.

[0050] 본원에서 사용되는 "세포내 신호전달 도메인"은 본원의 융합 단백질에서 사용되는 것과 같은 문자의 세포내 부분이며, 이는 적절한 신호를 수신할 때 공동자극, 양성적인 것과 같은 같은 반응을 직접적으로 또는 간접적으로 촉진하거나 또는 세포에서 생물학적 또는 생리적 반응을 활성화한다. 특정 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 결합시 신호를 수신하는 단백질 또는 단백질 복합체의 일부이거나, 세포 내의 다른 성분에 대한 신호를 전달하기 위해 표적 분자에 직접 결합할 수 있다. 세포내 신호전달 도메인은, 그것이 면역 수용체 티로신계 활성 모티프(ITAM), 키나아제 도메인, 공동자극 도메인 등과 같은 하나 이상의 신호전달 도메인 또는 모티프를 포함할 때, 세포 반응을 직접적으로 촉진할 수 있다. 다른 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 세포 반응을 차례로 직접적으로 촉진시키는 하나 이상의 다른 단백질과 결합함으로써 세포 반응을 간접적으로 촉진할 것이다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인 또는 그 기능적 단편은 CD3 $\epsilon$ , CD3 $\delta$ , CD3 $\zeta$ , CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcR $\alpha$ , FcR $\beta$ , FcR $\gamma$ , Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, S1p76, pT $\alpha$ , TCR $\alpha$ , TCR $\beta$ , TRIM, Zap70, PTCH2 또는 이들의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인 또는 그 기능적 단편은 CD3 $\zeta$ 을 포함하지 않는다.

[0051] 본원에서 사용되는 "다량체화 도메인"은 직접적으로 또는 간접적으로 다른 폴리펩티드 문자 또는 영역과 우선적으로 상호 작용하거나 결합하는 폴리펩티드 문자 또는 영역을 지칭하며, 다량체화 도메인의 상호 작용은 다량체화(즉, 호모다이머, 헤테로다이머, 호모트리머, 헤테로트리머, 호모 멀티머, 헤테로멀티머 등 일 수 있는 이량체, 삼량체, 사량체 또는 고차 다량체의 형성)에 기여하거나 효과적으로 촉진한다. 예를 들어, 다량체화는 공유 결합(예를 들어, 디설파이드 결합 또는 가교 결합), 이온 결합, 금속 결합, 정전기 상호 작용, 염다리, 쌍극자-쌍극자 힘, 수소 결합, 반데르발스 힘, 소수성 상호작용 또는 이들의 결합을 포함하는 하나 이상의 유형의 문자력에 기인할 수 있다. 다량체는 적절한 조건(예를 들어, 생리학적 조건, 발현, 정제, 저장 재조합 또는 조작된 단백질에 대해 적합한 수용액에서, 또는 비변성 또는 비환원 전기영동 조건 하에서)에서 안정하다. 예시적인 다량체화 도메인은 하나 이상의 이황화물 결합, 징크 핑거 모티프(zinc finger motif), 류신 지퍼 모티프(leucine zipper motif), 나선 대 나선(helix-turn-helix), 나선 고리 나선(helix-loop-helix) 등을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 융합 단백질은 결과적인 폴리펩티드 구조가 표적 문자에 대한 특이적 결합 친화도 또는 신호 전달 활동(예를 들어, 이펙터 도메인 활동) 또는 그 둘 다를 유지하기 위해, 두 개의 단일 사슬 융합 단백질의 상호 작용을 촉진시키거나 하나 이상의 결합 도메인의 위치를 정할 수 있는 스페이서 기능을 제공할 수 있는 "링커"를 포함할 수 있다. 예시적인 링커는 Gly<sub>x</sub>Ser<sub>y</sub>의 1 내지 약 10번 반복을 포함하며, 여기서 x 및 y는 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[0052] "접합 아미노산" 또는 "접합 아미노산 잔기"는 결합 도메인과 인접한 소수성 요소, 또는 소수성 요소의 한쪽 또는 양쪽 끝의 사이와 같이, 융합 단백질의 두 개의 인접한 모티프, 영역 또는 도메인 사이의 하나 이상의 (예를 들어, 약 2-20) 아미노산 잔기를 지칭한다. 접합 아미노산은 융합 단백질의 구조 설계(예를 들어, 융합 단백질을 암호화하는 핵산 문자의 제작 중에 제한 효소 부위의 사용으로부터 유래된 아미노산 잔기)로부터 유래할 수 있다. 특정 구현예에서, 접합 아미노산은 Gly<sub>x</sub>Ser<sub>y</sub>의 1 내지 약 10번 반복을 갖는 링커를 형성하며, 여기서 x 및 y는 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[0053]

본원에 사용된 바와 같이, "면역계 세포"는 골수에서 조혈 줄기 세포로부터 유래 된 면역계의 임의의 세포를 의미하며, 이는 두 개의 주요 계통인, 골수 전구 세포 (단구, 대식세포, 수지상 세포, 거핵구 및 과립구와 같은 골수 세포를 생기게 함) 및 림프성 전구 세포(T 세포, B 세포 및 자연 살해 세포(NK)와 같은 림프성 세포를 생기게 함)를 생기게 한다. 예시적인 면역계 세포는 CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, CD4- CD8- 이중 음성적 T 세포,  $\gamma\delta$  T 세포, 조절 T 세포, 자연 살해 세포 및 수지상 세포를 포함한다. 대식세포 및 수지상 세포는 "항원 제시 세포" 또는 "APCs"로 지칭될 수 있는데, 이는 펩티드로 복합된 APC의 표면 상의 주요조직 적합성 복합체(MHC) 수용체가 T 세포 표면의 TCR과 상호 작용할 때 T 세포를 활성화시킬 수 있는 특화된 세포이다.

[0054]

"T 세포"는 흉선에서 성숙하여 T 세포 수용체(TCR)를 생산하는 면역계 세포이다. T 세포는 나이브(naive) (항원에 노출되지 않고; CD62L, CCR7, CD28, CD3, CD127, 및 CD45RA의 발현이 증가되고,  $T_{CM}$ 과 비교하여 CD45RO의 발현이 감소된) 기억 T 세포( $T_M$ )(항원을 경험하고 오래 산) 및 이펙터 세포(항원을 경험하고 세포 독성인)가 될 수 있다.  $T_M$ 은 중앙 기억 T 세포( $T_{CM}$ , 나이브 T 세포와 비교하여 CD62L, CCR7, CD28, CD127, CD45RO 및 CD95의 발현 증가, 및 CD54RA의 발현 감소) 및 이펙터 기억 T 세포( $T_{EM}$ , 나이브 T 세포 또는  $T_{CM}$ 과 비교하여 CD62L, CCR7, CD28, CD45RA의 발현 감소, 및 CD127 발현의 증가)의 부분 집합으로 더욱 나누어질 수 있다. 이펙트 T 세포 (TE)는 CD62L, CCR7, CD28의 발현이 감소하고  $T_{CM}$ 에 비해 그랜자임 및 퍼포린에 대해 양성인 항원을 경험한 CD8+ 세포 독성 T 림프구를 지칭한다. 다른 예시적인 T 세포에는 Tr1, Th3, CD8+CD28- 및 Qa-1 제한 T 세포뿐 아니라, CD4 + CD25 + (Foxp3 +) 조절성 T 세포 및 Treg17 세포와 같은 조절성 T 세포를 포함한다.

[0055]

"T 세포 수용체"(TCR)는 CD3와 관련하여 주요조직 적합성 복합체(MHC) 분자에 결합된 항원을 인식하는 데 일반적으로 관여하는 T 세포(또는 T 림프구) 표면에서 발견되는 분자를 지칭한다. TCR은 대부분의 T 세포에서 매우 가변적인  $\alpha$  및  $\beta$  사슬(각각 TCR  $\alpha$  및 TCR  $\beta$ 로도 알려짐)의 이황화물이 연결된 헤테로 다이머를 갖는다. T 세포의 작은 하위 집합에서, TCR은 가변적인  $\gamma$  및  $\delta$  사슬(각각 TCR  $\gamma$  및 TCR  $\delta$ 라고도 함)의 이종이량체로 구성된다. TCR의 각 사슬은 면역글로불린 상과의 구성원이며 하나의 N 말단 면역 글로불린 가변 도메인, 하나의 면역 글로불린 일정 도메인, 막 관통 부위 및 C 말단의 짧은 세포질내 꼬리(cytoplasmic tail)를 보유한다 (Janeway *et al.*, *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease*, 3<sup>rd</sup> Ed., Current Biology Publications, p. 4:33, 1997, 참조). 본원 개시에서 사용되는 TCR은, 인간, 마우스, 래트, 고양이, 개, 염소, 말 또는 다른 포유류를 포함하는 다양한 동물 종으로부터 유래될 수 있다. TCR은 세포-결합(즉, 막통과 영역 또는 도메인을 가짐)되거나 가용성 형태 일 수 있다.

[0056]

"주요조직 적합성 복합체 분자"(MHC 분자)는 사람 백혈구 항원(HLA 분자)과 상호교환적으로 사용되고, 또한 이와 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 세포 표면에 펩티드 항원을 전달하는 당단백과 관련이 있다. MHC 클래스 I 분자는  $\alpha$  사슬(3 개의  $\alpha$  도메인을 가짐)과 비공유 결합된  $\beta 2$  마이크로 글로불린으로 이루어진 이종이량체이다. MHC 클래스 II 분자는 막을 걸치는 두 개의 막통과 당단백  $\alpha$ ,  $\beta$ 로 구성된다. 각 사슬은 두 개의 도메인을 가진다. MHC (HLA) 클래스 I 분자는 펩티드:MHC (또는 인간 내의 펩티드:HLA) 복합체가 CD8+ T 세포에 의해 인식되는 세포 표면으로 세포질에서 유래되는 펩티드를 전달한다. MHC (HLA) 클래스 II 분자는 소낭계 (vesicular system)에서 유래되는 펩티드를 세포 표면에 전달하며, 여기서 CD4<sup>+</sup> T 세포에 의해 인식된다. MHC 분자는 인간, 마우스, 래트 또는 다른 포유 동물을 포함하는 다양한 동물 종으로부터 유래될 수 있다.

[0057]

"핵산 분자", 또는 폴리뉴클레오티드는 cDNA, 게놈 DNA 및 합성 DNA를 포함하는 RNA 또는 DNA의 형태일 수 있다. 핵산 분자는 이중 가닥 또는 단일 가닥일 수 있고, 단일 가닥일 경우, 암호 가닥 또는 비암호(안티 - 센스 가닥)일 수 있다. 암호 분자는 당 업계에 공지된 암호 서열과 동일한 암호 서열을 가질 수 있거나 또는 유전 암호의 중복성 (redundancy) 또는 축중(degeneracy)의 결과로서 또는 스플라이싱에 의해 동일한 폴리펩티드를 암호화할 수 있는 상이한 코딩 서열을 가질 수 있다.

[0058]

본원의 핵산 분자 또는 폴리뉴클레오티드의 변이체도 또한 고려된다. 변이체 폴리 뉴클레오티드는 본원에 기술된 바와 같이 정의된 서열의 폴리뉴클레오티드 중 하나와 적어도 90%, 바람직하게는 95%, 99% 또는 99.9% 동일하거나, 또는 약 65-68°C에서 0.015M 염화나트륨, 0.0015M 나트륨 시트레이트 또는 약 42°C에서 0.015M 염화나트륨, 0.0015M 시트르산 나트륨 및 50% 포름아미드의 염격한 혼성화 조건에서 상기 정의된 서열의 폴리뉴클레오티드 중 하나에 혼성화한다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 본원에 기술된 작용기를 갖는 결합 도메인 또는 그의 융합 단백질을 암호화하는 능력을 보유한다.

[0059]

용어 "엄격한"은 당 업계에서 일반적으로 엄격한 것으로 이해되는 조건을 지칭하기 위해 사용된다. 혼성화 엄격

성은 주로 온도, 이온 강도 및 포름아미드와 같은 변성제의 농도에 의해 결정된다. 혼성화 및 세척에 대한 엄격한 조건의 예는 약 65-68°C에서 0.015M 염화나트륨, 0.0015M 나트륨 시트레이트 또는 약 42°C에서 0.015M 염화나트륨, 0.0015M 시트르산 나트륨 및 50% 포름아미드이다(Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989 참조).

[0060] 보다 엄격한 조건(예를 들면, 보다 높은 고온, 보다 낮은 이온 강도, 보다 높은 포름아미드 또는 기타 변성제)도 사용할 수 있으나, 혼성화 속도는 영향을 받는다. 디옥시올리고뉴클레오티드의 혼성화와 관련한 예로서, 추가의 예시적인 엄격한 혼성화 조건은 37°C(14-염기 올리고뉴클레오티드에 대해), 48°C(17-염기 올리고뉴클레오티드에 대해), 55°C(20-염기 올리고뉴클레오티드에 대해) 및 60°C(23-염기 올리고뉴클레오티드에 대해)에서 6x SSC, 0.05% 소듐 피로포스페이트로 세척하는 것을 포함한다.

[0061] "벡터"는 다른 핵산을 운 할 수 있는 핵산 분자이다. 벡터는 예를 들어 플라스미드, 코스미드, 바이러스 또는 파지일 수 있다. "발현 벡터"는 적절한 환경에 존재할 때 벡터에 의해 운반되는 하나 이상의 유전자에 의해 암호화되는 단백질의 발현을 지시할 수 있는 벡터이다.

[0062] "레트로 바이러스"는 RNA 계놈을 갖는 바이러스이다. "감마레트로바이러스 (Gammaretrovirus)"는 레트로 바이러스과(retroviridae)의 속(genus)을 지칭한다. 예시적인 감마레트로바이러스는 마우스 줄기 세포 바이러스, 뮤린(murine) 백혈병 바이러스, 고양이 백혈병 바이러스, 고양이 육종 바이러스 및 조류 세균성 신경 종증 바이러스를 포함한다.

[0063] "렌티 바이러스(Lentivirus)"는 분할 및 비분할 세포를 감염시킬 수 있는 레트로 바이러스의 속(genus)을 지칭한다. 렌티 바이러스의 몇 가지 예는 HIV (인간 면역 결핍 바이러스: HIV 1형 및 HIV 2형 포함); 말 감염성 빈혈 바이러스; 고양이 면역 결핍 바이러스 (FIV); 소 면역 결핍 바이러스 (BIV); 및 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)를 포함한다.

[0064] 2 개 이상의 폴리 웨პ터드 또는 핵산 분자 서열의 문맥에서 "동일한" 또는 "퍼센트 동일성"이란 용어는, 서열 비교 알고리즘, 수동 정렬 또는 육안 검사와 같은 당 업계에 공지된 방법을 사용하여 측정된 비교 영역 또는 지정 영역에 대한 최대 일치를 위해 비교되고 정렬될 때, 특정 지역에 대해 동일하거나 특정 백분율(예를 들면, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일성)을 갖는 두 개 이상의 서열 또는 하위 서열을 의미한다.

[0065] 예를 들어, 퍼센트 서열 동일성 및 서열 유사성을 결정하기에 적합한 바람직한 알고리즘은 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이며, 이는 Altschul *et al.* (1977) Nucleic Acids Res. 25:3389 및 Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215:403에 각각 기재되어 있다,

[0066] "치료" 또는 "개선"은 대상(예를 들면, 인간과 영장류, 말, 개, 마우스 또는 쥐와 같은 비인간 포유동물)의 질병, 장애 또는 상태에 대한 의학적 관리를 지칭한다. 일반적으로, 본 명세서의 융합 단백질을 발현하는 숙주 세포, 및 선택적으로 보조제 또는 보조 치료제를 포함하는 적절한 용량 또는 치료 요법은 치료적 또는 예방적 이점을 유도하기에 충분한 양으로 투여된다. 치료적 또는 예방적 이익에는 개선된 임상 결과; 질병과 관련된 증상의 완화 또는 완화; 증상의 감소; 삶의 질 향상; 더 이상 질병이 없는 상태; 질병 범위의 감소, 질병 상태의 안정화; 질병 진행의 지연; 경감; 생존; 연장된 생존; 또는 이들의 임의 조합을 포함한다.

[0067] 치료되는 질병 또는 증상의 상황에서, 본 명세서의 융합 단백질 또는 융합 단백질을 발현하는 세포 (예를 들어, CD200R-CD28, SIRP  $\alpha$ -CD28, CD200R 41BB, SIRP  $\alpha$ -41BB, CD200R-CD28-41BB, SIRP  $\alpha$ -CD28-4-1BB 또는 다른 그러한 융합 단백질)의 "치료 유효량" 또는 "유효량"은, 통계적으로 유의미한 방식(예를 들면, 감염 감소, 종양 크기 감소, 암 성장 저해 등)으로 처리되는 질병의 하나 이상의 증상의 개선을 초래하기에 충분한 양의 융합 단백질 또는 충분한 수의 세포를 지칭한다.

#### 면역조절 융합 단백질(IFP)

[0069] 특정 측면에서, 본 명세서는 세포외 요소, 소수성 요소 및 세포내 요소를 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 일부 구현예에서, 세포외 요소는 표적에 특이적으로 결합하는 것과 같은 결합 도메인을 포함한다.

[0070] 일부 구현예에서, 결합 도메인은 통상적으로, 예를 들어 그의 천연 환경에서 면역억제성 수용체 또는 관문 분자와 같은 그의 결합 파트너 또는 리간드 또는 수용체에 결합되었을 때, 또는 표적이 억제성 수용체 또는 리간드 또는 관문 분자 또는 억제성 리간드일 때, 음성적 또는 억제성 신호를 전달할 수 있는 분자로부터 유래된다. 일부 구현예에서, 세포내 요소는 공동자극 또는 양성적 신호를, 예를 들면 면역 세포로 일반적으로 전달할 수 있

는 분자의 공동자극 신호전달 도메인 또는 신호전달 영역과 같은 신호전달 도메인을 포함한다. 따라서, 일부 측면에서, 융합 단백질은 자연적인 설정에서 저해 신호를 초래할 수 있는 결합 사건에 대해 반응하여 양성적 또는 공동자극 신호를 전달할 수 있다.

[0071] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 특정 거리가 달성되는 것이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, (바람직하게는 융합 단백질과 표적 사이에서 특이적 결합에 의해 형성되는 복합체의 세포와 부분으로 구성된 것과 같은) 융합 단백질::표적 복합체는, 면역 시냅스에스 막들 사이의 거리, 또는 예를 들면, 후술하는 TCR에 의한 그것의 특이적인 인식, 또는 자연 분자와 자연 결합 파트너 사이에 형성된 복합체의 세포와 부분까지 걸친 거리와 같이, TCR과 MHC 분자 사이의 동족 복합체의 세포와 부분까지 걸치는 거리와 같은 특정 길이이거나 특정 거리에 걸친다. 일부 구현예에서, 거리 또는 길이는 T 세포와 같은 면역 세포에서 발현될 때 또는 면역 시냅스로의 진입시 항원 수용체 또는 다른 신호전달 분자와 융합 단백질이 공동으로 위치하는 것(colocalization)을 촉진시키기에 충분하다.

[0072] 배경으로, 면역 시냅스는 면역 세포와 면역 세포 사이에서와 같이, 다양한 세포 사이에 형성될 수 있는 세포 간의 경계면이다(Rossy *et al.*, *Frontiers in Immunol.* 3: 1-12, 2012; Hatherley *et al.*, *Structure* 21:820, 2013). 예를 들어, 항원 제시 세포(APC)에 접촉하는 T 세포의 경우, 면역 시퀀스는 (T 세포의 표면에서 발견되는)TCR과 HLA-펩티드(비인간에 대한 MHC-펩타이드) 복합체(예를 들어, APC의 표면에서 발견되며; HLA 클래스 I 분자는 모든 유핵 세포의 표면에서 발견될 수 있지만, HLA 클래스 II는 조건적으로 모든 세포 유형에서 발현될 수 있고, APC에서 규칙적으로 발견됨)의 결합에 의해 형성될 수 있다. 또한, 면역 시냅스는 림프구 활성화, 직접적인 항원-HLA(또는 항원-MHC) 복합체를 림프구에 제시하는 것, 세포 사이에서 사이토카인 또는 용질과립의 직접 분비에 영향을 줄 수 있는 초분자 활성집락(SMAC)으로 조직될 수 있다. SMAC는 동심원으로 배열된 3 개의 구조로 구성될 수 있다: 공동자극 및 억제성 분자뿐만 아니라 높은 수의 TCR을 함유하는 중앙(cSMAC), LFA-1 및 탈린(talin)이 군집된 주변 영역(pSMAC) 및 CD43 및 CD45 분자가 풍부한 말초 영역(dSMAC). 특정 구현예에서, 면역 시냅스는 약 10nm 내지 약 15nm까지 걸쳐있을 것이다. 예를 들어, TCR::HLA-펩티드 상호작용 또는 융합 단백질-표적 상호작용과 같은 면역 시냅스 내에서 발견되는 단백질 상호 작용은 일반적으로 막 사이에서 약 14nm에 걸쳐있다. 특정 구현예에서, 면역 시냅스 내의 SMAC의 너비는 15 nm를 초과하지 않는다.

[0073] 일부 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포와 스판(span)은 면역 시냅스의 특정 구획에 위치할 수 있는 정도이다. 면역 시냅스의 여러 구획에 위치하는 것으로 생각되는 일부 복합체들은 그들의 세포와 스판의 길이에 관해 잘 특징지어진다. 예를 들어, MHC-TCR 복합체는 약 10-15 nm의 세포와 스판을 갖는 것으로 생각되며, 보다 많은 인테그린 기반 복합체는 약 40 nm 정도의 세포와 스판을 갖는 것으로 생각된다(Alakoskela *et al.*, *Biophys J* 100:2865, 2011). 추가적인 예시적인 복합체는 CD2-CD48 복합체를 포함하며, 이것은 약 12.8 nm의 세포와 스판을 갖는 것으로 생각된다(Milstein *et al.*, *J Biol Chem* 283:34414, 2008). 또한, cSMAC에 위치하는 것으로 생각되는 예시적인 리간드 결합 분자는 TCR 및 MHC 복합체, CD2, CD4, CD8, CD28 및 이들의 리간드를 포함하며(Dustin *et al.*, *CSH Perspectives in Biology* 2:a002311, 2010); 따라서 자연 리간드와 복합된 이들 분자는 cSMAC에 위치하기에 적당한 크기를 갖는 것으로 고려된다.

[0074] 일부 측면에서, 융합 단백질의 세포와 부분 또는 그들의 결합 파트너와 같은 이들 중 어느 것의 결합체와 같은 특정한 구조체 또는 그들의 조작된 세포와 부분의 길이 또는 거리 또는 근사 길이 또는 거리는 공지의 방법으로 결정하거나 모델링할 수 있다. 일부 예시적인 모델에서, 단백질의 3차 구조, 결합 도메인 및 다른 특성은 아미노산 또는 핵산 서열의 입력을 사용하여 근사화될 수 있다. 단백질의 3 차 구조는 단백질 또는 그의 복합체의 세포와 부분의 대략적인 길이를 결정하는데 유용한 세포와 부분 크기, 유연성 및 다른 특성을 근사하는데 사용될 수 있다. 일반적으로, 단백질의 세포와 부분의 길이를 모델링하거나 근사하는 방법은 알려져있다. 예를 들어, molbiol-tools.ca와 Swiss-Model은 단백질 구조 예측에 유용한 여러 도구를 포함한다(Schwede, T., *Structure* 21:1531, 2013 참조).

[0075] 특정 구현예에서, 표적과 관련되거나 상호 작용하는 본 명세서의 융합 단백질은 면역 시냅스 내에 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포와 부분은 면역 시냅스에 걸쳐있다. 다른 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체는 cSMAC와 같은 SMAC에 위치한다. 추가적인 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포와 부분은 TCR :: HLA-펩티드 상호 작용의 세포와 부분에 의해 정의되는 면역 시냅스에 걸쳐있다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포와 부분의 길이는 약 12nm 내지 약 15nm, 또는 약 14nm이다.

[0076] 면역 시퀀스에서 상호 작용하는 세포의 세포막 사이의 거리는 당 업계에 공지된 임의의 방법으로 측정될 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 거리는 부회절-해상도(subdiffraction-resolution) 방법 또는 전자 현미경에

의해 측정될 수 있다.

[0077] 특정 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 융합 단백질은 세포막으로부터 40nm 미만으로 연장되는 세포외 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 융합 단백질은 세포막으로부터 30 nm 미만으로 연장되는 세포외 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 융합 단백질은 세포막으로부터 20 nm 미만으로 연장되는 세포외 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 바와 같은 융합 단백질은 세포막으로부터 15 nm 미만으로 연장되는 세포외 부분을 포함한다.

[0078] 일부 구현예에서, 제공된 융합 단백질은 세포막(들) 사이의 거리와 비교하여 시냅스로의 진입 또는 항원 수용체와의 공동-편재를 허용하거나, 또는 자연 단백질에 존재하는 거리 또는 길이를 모방하는 세포외 길이 또는 공간 거리를 갖는 이점을 제공한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질의 세포외 부분이 결합 도메인이 얹어지는 다른 문자로부터 유래된 추가적인 문자로부터 유래된 도메인(들)을 포함하는 곳에서, 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소의 길이는 자연 문자의 세포외 영역에 비교하여 감소되어, 예를 들어 절단되어, 유사한 길이 또는 거리를 제공한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술된 바와 같은 융합 단백질은 세포 표면 수용체의 세포외 도메인 및 제2의 도메인(예를 들어, 제2 세포 표면 수용체의 링커 또는 세포외 도메인)을 포함하는 세포외 요소를 포함한다. 이러한 일부 구현예에서, 표적 문자와 복합될 때 면역 시냅스 내에 존재하거나 면역 시냅스에 걸쳐있을 수 있는 세포외 요소를 유지하기 위해, 세포외 요소의 하나 이상의 도메인이 절단될 수 있다.

[0079] 일부 질병(예를 들면, 암)에서, T 세포 수용체(TCR)에 의한 항원 인식으로부터 야기된 T 세포 반응의 크기(amplitude) 및 품질은 면역 저항을 초래할 수 있는, 공동 자극과 억제성 신호 사이의 불균형으로 인해 조절 불능(예를 들면, 감소)될 수 있다.

[0080] 본원 개시의 특정의 융합 단백질의 한 가지 이점은 제1 신호가 질적으로 상이한 제2 신호로 전환될 수 있다는 것이다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 융합 단백질은 음성적 또는 억제성 신호가 양성적 또는 공동자극 신호로 효과적으로 전환되고, 그에 따라 암과 같은 질환과 관련된 면역 저항을 완화시키거나 최소화할 수 있도록 한다. 예를 들어, 자연 결합 파트너에 의해 결합되었다면, 음성적 신호의 억제 또는 전달을 초래하는 표적에 대한 결합시, 일부 구현예에서 본원에서 제공되는 융합 단백질은 대신 양성적, 예를 들어, 공동자극 신호를 T 세포와 같이 발현되는 세포에 전달한다. 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질은 음성적 신호와 관련된 세포외 요소 및 양성적 신호와 관련된 세포내 요소를 포함한다. T세포의 표면에서 발견되는 예시적인 수용체인 세포 독성 T-림프구 관련 항원 4(CTLA4 또는 CD152)는 APC에서 발견되는 그의 리간드, CD80 또는 CD86 중 하나에 의해 결합될 때 억제성 신호를 받을 수 있다. CTLA4는 T 세포 공동자극 수용체 CD28을 중화(counteracting)시킴으로써 초기 단계의 T 세포 활성화의 진폭을 조절한다(Rudd *et al.*, *Immunol. Rev.* 229:12, 2009 참조). T 세포의 표면 상에서 발견되는 또 다른 예시적인 수용체인, 프로그램된 세포 사멸 단백질 1(PD-1 또는 CD279)은 APC에서 발견되는 그의 리간드, PD-L1(B7-H1, CD274) 또는 PD-L2 (B7-DC, CD73)중 하나에 의해 결합될 때 억제 신호를 받을 수 있다. PD-1은 염증이 있는 동안 말초 조직 내의 T 세포의 활성과 자가면역을 최소화하는 것을 제한한다(Keir *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.* 26:677, 2008 참조). 음성적 신호(예를 들면, CTLA4 또는 PD-1)와 관련된 세포외 요소 및 양성적 신호(예를 들면, CD28, CD137)와 관련된 세포내 요소를 포함하는 본원에 개시된 대표적인 융합 단백질은 CTLA4-CD28 융합 단백질, CTLA4-CD137 융합 단백질, CTLA4-CD28-CD137 융합 단백질, PD1-CD28 융합 단백질, PD1-CD137 융합 단백질 또는 PD1-CD28-CD137 융합 단백질을 포함한다. 본 개시의 융합 단백질은 면역 세포에 의해 수용되는 억제성 신호의 수를 차단하거나 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 억제성 신호를 양성적 신호로 전환시킴으로써 면역 세포에 의해 수용되는 억제성 신호의 총 수를 감소시키거나 또는 통상적으로 음성적 또는 억제성 신호를 양성적 신호로 전환시킨다. 다른 구현예에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 야생형 수용체의 신호 전달을 차단한다. 예를 들어, 지배적인 음성적 융합 단백질은 본 발명의 범위 내에 포함된다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 야생형 수용체에 결합하고, 야생형 수용체와 올리고머를 형성함으로써 야생형 수용체의 신호전달을 차단한다.

[0081] 본 개시의 특정 융합 단백질의 또 다른 이점은 하나 이상의 그러한 융합 단백질이 세포에 의해 발현되어 다중 자극 신호를 제공한다는 것이다. 다수의 공동자극 도메인을 보유하는 재조합 TCR은 적절한 공동자극 신호전달을 생성하지 않을 수 있음이 관찰되었다. 복수의 면역조절 융합 단백질, 특히 면역 시냅스 내에 존재할 수 있는 면역 조절 단백질을 공동 발현시키는 것은 T 세포가 아네르기(anergy) 및 급증하는 것을 피하기 위해 필요한 공동자극 신호전달을 제공할 수 있다.

[0082] 일부 구현예에서, 본 개시의 융합 단백질은 TCR 또는 키메릭 항원 수용체 (CAR) 또는 다른 항원 수용체와 비교하여 인 트랜스(*in trans*)로 작용한다. 일부 구현예에서, 본원에 개시된 융합 단백질은 면역 시냅스 외부에서

작용한다.

[0083] 또 다른 측면에서, 본 개시의 융합 단백질은 선별할 필요없이, 융합 단백질에 결합하는 리간드를 발현하는 종양 세포로 재자극함으로써 형질도입된 T 세포를 풍부하게 한다.

[0084] 하나의 예시적인 구현예에서, (a) CD200R의 세포외 부분, (b) CD28의 막통과 도메인 및 (c) CD28의 세포내 신호 전달 도메인을 포함하는 융합 단백질이 제공된다. 일부 구현예에서, 세포외 부분은 CD28 막통과 도메인으로부터 연장되는 CD28의 세포외 부분을 추가로 포함한다. 추가적인 구현예에서, CD200R의 세포외 부분은 CD200R의 N-말단으로부터 유래된 적어도 약 231개 아미노산을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질은 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 추가로 포함한다.

[0085] 또 다른 예시적인 구현예에서, 본 발명은 (a) SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분, (b) CD28의 막통과 도메인 및 (c) CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 CD28 막통과 도메인으로부터 연장되는 CD28의 세포외 부분을 추가로 포함한다. 추가적인 구현예에서, SIRP $\alpha$ 의 세포외 부분은 SIRP $\alpha$ 의 N- 말단으로부터 유래되는 적어도 약 361개 아미노산을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 상기 융합 단백질은 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 추가로 포함한다.

[0086] 본원에 개시된 융합 단백질의 성분 부분은 본 명세서에서 추가로 기재된다.

#### 세포외 요소

[0088] 본 명세서에 기재된 바와 같이, 본 발명의 융합 단백질은 일반적으로 표적에 특이 적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소를 포함한다. 융합 단백질 결합 도메인에 의한 표적과의 결합은 (1) 표적과 다른 분자와의 상호 작용을 차단하거나(예를 들면, 수용체-리간드 상호 작용을 차단 또는 방해), (2) 표적의 특정 기능을 방해, 감소 또는 제거하거나(예를 들면, 억제성 신호 전달), (3) 표적이 결합될 때 정상적으로 유도되지 않는 특정 생물학적 경로를 유도하거나(예를 들면, 억제성 또는 음성적 신호를 자극성 또는 양성적 신호로 전환) 또는 이들의 임의의 조합을 의미한다. 일부 구현예에서, 본원에 기술 된 융합 단백질은 세포외 부분을 포함하며, 세포외 부분은 음성적 신호와 관련된 단백질의 세포외 부분을 포함한다.

[0089] 본 발명의 예시적인 결합 도메인은 세포 표면 수용체의 엑토도메인 또는 그의 결합 부분, 세포 표면 리간드의 엑토도메인, 사이토카인(예를 들면, IL35), 케모카인, 항체 기반 결합 도메인, TCR 기반 결합 도메인, 비통상적인 결합 도메인, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 예를 들어, CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CTLA4 (CD152), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 또는 LPA5의 엑토도메인을 포함하는 결합 도메인은 본 개시의 범위 내에 있다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 세포 표면 수용체 또는 리간드로부터 유래된 "엑토도메인"은 완전한 세포외 도메인 또는 그의 기능적(결합) 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 엑토도메인은 야생형 또는 레퍼런스 단백질과 비교하여 표적에 대해 더 높은 결합력을 갖는 변이된 세포외 도메인 또는 이의 기능적(결합) 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 엑토도메인은 가변-유사 도메인(variable-like domain) 또는 가변-유사 도메인의 CDR을 포함한다.

[0090] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 CD200-결합 도메인, 예를 들어 CD200R 엑토도메인 또는 그의 CD200 결합 부분을 포함하는 세포외 요소를 포함한다. 배경으로, CD200R은 면역 글로불린 상과의 타입-1 막 단백질인 CD200에 결합하는 수용체이다(Tonks *et al.*, *Leukemia* 21:566-568, 2007). CD200은 백혈병, 다발성 골수종 및 다양한 고형 종양(예컨대, 흑색종, 유방암 및 편평 세포 암종)을 포함하는 다양한 악성 종양에서 상향 조절되는 것으로 보고되었다. 실제로, CD200 발현의 높은 수치는 급성 골수성 백혈병(AML)에 대한 나쁜 예후와 연관되어 있으며, CD200R 신호전달은 T 세포에 대한 억제성 효과가 있는 것으로 나타났다(Coles *et al.*, *Leukemia* 26: 2148-2151, 2012). 특정 구현예에서, CD200R 엑토도메인은 CD200R 단백질의 전체 길이 세포외 부분, CD200R 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, CD200R 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 CD200R의 막통과 도메인의 부분과 함께 CD200R 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0091] 또 다른 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:2에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 다른 특정 구현예에서, CD200R 엑토도메인은 CD200R의 N-말단으로부터 유래된 적어도 200개의 아미노산을 포함한다. 일부 다른 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:11에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 또 다른 구현예에서, CD200R의 세포외 부분은 CD200R의 N- 말단으로부터의 적어도 180, 190, 200, 210, 220, 230, 231, 234 또는 243개 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:8에 기재된 바와 같은 핵산 분자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 CD200R, CD200R 엑토도메인 또는 그의 임의의 CD200R 단편은 인간 CD200R이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:2에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화

되는 아미노산 서열을 갖는 문자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 CD200R 엑토도메인이 제공된다.

[0092] 어떤 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:25에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 어떤 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:34에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 어떤 특정 구현예에서, CD200R은 SEQ ID NO.:31에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 CD200R, CD200R 엑토도메인 또는 그의 임의의 CD200R 단편은 인간 CD200R이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:25에 명시된 아미노산 서열을 갖는 문자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 CD200R 엑토도메인이 제공된다.

[0093] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 SIRP $\alpha$  엑토 도메인 또는 그의 결합 부분과 같은 CD47 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 배경으로 CD47은 세포를 식균 작용으로부터 보호하는 역할을 하는 광범위하게 발현된 막통과 단백질이다(Willingham *et al.*, *PNAS* 109: 6662-6667, 2012). CD47의 SIRP $\alpha$ 에의 결합은 대식세포에 의한 식균 작용을 억제하는 SIRP $\alpha$  신호전달을 개시한다. 따라서, SIRP $\alpha$ 의 하향 조절은 대식세포에 의한 식균 작용을 증가시킨다. SIRP $\alpha$ 는 AML, 만성 골수성 백혈병(CML), 급성 림프구성 백혈병(ALL), 비호지킨 림프종(NHL), 다발성 골수종(MM), 폐, 방광 및 기타 고형 종양을 포함하는 복수의 인간 종양 유형에서 발현된다. 특정 구현예에서, SIRP $\alpha$  엑토도메인은 SIRP $\alpha$  단백질의 전체 길이 세포외 부분, SIRP $\alpha$  단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, SIRP $\alpha$  단백질의 세포외 부분의 결합 단편 및 SIRP $\alpha$ 의 막통과 도메인의 부분과 함께 SIRP $\alpha$  단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0094] 추가의 구현예에서, SIRP $\alpha$  엑토도메인 또는 그의 결합 부분은 SEQ ID NO.:17에 기재된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 특정 구현예에서, SIRP $\alpha$  엑토도메인은 SIRP $\alpha$ 의 N- 말단으로부터 유래된 적어도 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 361, 370, 373 또는 그 이상의 아미노산을 포함한다. 일부 다른 구현예에서, SIRP $\alpha$ 는 SEQ ID NO.:21에 기재된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 SIRP $\alpha$ , SIRP $\alpha$  엑토도메인 또는 그의 임의의 SIRP $\alpha$  단편은 인간 SIRP $\alpha$ 이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:17에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 문자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 SIRP $\alpha$  엑토도메인이 제공된다.

[0095] 추가의 구현예에서, SIRP $\alpha$  엑토도메인은 SEQ ID NO.:40에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SIRP $\alpha$ 는 SEQ ID NO.:44에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 SIRP $\alpha$ , SIRP $\alpha$  엑토도메인 또는 그의 임의의 SIRP $\alpha$  단편은 인간 SIRP $\alpha$ 이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:40에 명시된 아미노산 서열을 갖는 문자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 SIRP $\alpha$  엑토도메인이 제공된다.

[0096] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 PD-L1, PD-L2 또는 둘 다에 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 PD1 엑토 도메인 또는 그의 리간드 결합 부분을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 특정 구현예에서, PD-1 엑토도메인은 PD-1 단백질의 전체 길이 세포외 부분, PD-1 단백질의 전체 길이 성숙한 세포외 부분, PD-1 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, PD-1의 막통과 도메인의 부분과 함께 PD-1 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 이들의 임의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, PD-1 엑토도메인은 PD-1의 N-말단에서 유래된 적어도 80, 90, 100, 110, 120, 125, 130, 132, 135, 137, 140, 149, 150, 155, 158, 160, 또는 170개 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, PD-1 엑토 도메인은 SEQ ID NO.:91, 93, 또는 95에 기재된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 추가적인 구현예에서, PD-1 엑토도메인은 SEQ ID NO.:60에 명시된 PD-1에서 유래된 적어도 130개의 아미노산을 포함한다. 또 다른 구현예에서, PD-1 엑토도메인은 SEQ ID NO.:90에 기재된 바와 같이 PD-1 엑토도메인의 N-말단으로부터 유래된 170개 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, PD-1은 SEQ ID NO.:89에 기재된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 PD-1, PD-1 엑토도메인 또는 그의 임의의 PD-1 단편은 인간 PD-1이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:60에 명시된 아미노산 서열을 갖는 문자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도

98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 PD-1 엑토도메인이 제공된다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:90에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 PD-1 엑토도메인이 제공된다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:89에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 PD-1 엑토도메인이 제공된다. 특정 구현예에서, PD-1 엑토도메인은 SEQ ID NO.:92, 94, 또는 96에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:92, 94 또는 96에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 PD-1 엑토도메인이 제공된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 PD-1, PD-1 엑토도메인 또는 그의 임의의 PD-1 단편은 인간 PD-1이다.

[0097] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 CD2 엑토도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 특정 구현예에서, CD2 엑토도메인은 SEQ ID NO.:61에 기재된 바와 같은 핵산 분자에 의해 암호화된다. 특정 구현예에서, CD2 엑토도메인은 CD2 단백질의 전체 길이 세포외 부분, CD2 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, CD2 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 CD2 단백질의 막통과 도메인의 부분과 함께 CD2 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 CD2, CD2 엑토도메인 또는 그의 임의의 CD2 단편은 인간 CD2이다. 추가적인 구현예에서, GenBank Accession No. NM\_001767.3에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 CD2 엑토도메인이 제공된다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:61에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 CD2 엑토도메인이 제공된다.

[0098] 일부 구현예에서, CD2 엑토도메인은 SEQ ID NO.:62에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:62에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 CD2 엑토도메인이 제공된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 CD2, CD2 엑토도메인 또는 그의 임의의 CD2 단편은 인간 CD2이다.

[0099] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 FasL과 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 일부 구현예에서, 융합 단백질은 Fas(CD95) 엑토도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. Fas는 종양 관련 혈관계에서 발현되며, 세포 사멸을 유도하여 CD8 세포의 침투를 예방한다. 특정 구현예에서, Fas 엑토도메인은 Fas 단백질의 전체 길이 세포외 부분, Fas 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, Fas 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 Fas 단백질의 막통과 도메인의 부분과 함께 Fas 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 구현예에서, Fas 엑토도메인은 SEQ ID NO.:71에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 다른 구현예에서, Fas 엑토도메인은 Fas의 N-말단에서 유래된 적어도 150, 160, 161, 166, 170, 또는 173 개 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, Fas는 SEQ ID NO.:73에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 다른 특정 구현예에서, Fas는 SEQ ID NO.:75에서 명시된 핵산 분자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 Fas, Fas 엑토도메인 또는 그의 임의의 Fas 단편은 인간 Fas이다. 추가적인 구현예에서, GenBank Accession No. NM\_000043.4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 Fas 엑토도메인이 제공된다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:71에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 Fas 엑토도메인이 제공된다.

[0100] 일부 구현예에서, Fas 엑토도메인은 SEQ ID NO.:72에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, Fas 엑토도메인은 SEQ ID NO.:74에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 특정 구현예에서, Fas 엑토도메인은 SEQ ID NO.:76에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 Fas, Fas 엑토도메인 또는 그의 임의의 Fas 단편은 인간 Fas이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:72에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 Fas 엑토도메인이 제공된다.

[0101] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 LAG3(CD223) 엑토도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 특정 구현예에서, LAG3 엑토도메인은 LAG3 단백질의 전체 길이 세포외 부분, LAG3 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, LAG3 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 LAG3 단백질의 막통과 도메인의 부분과 함께 LAG3 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 예를 들면, 일부 구현예에서, LAG3 엑토도메인은 LAG3의 N 말단에서 유래된 약 420, 416, 415, 413, 또는 410개 아미노산을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 LAG3, LAG3 엑토도메인 또는 그의 임의의 LAG3 단편은 인간 LAG3이다. 추가적인 구현예에서, GenBank Accession No. NM\_002286.5에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 LAG3 엑토도메인이 제공된다.

[0102] 추가적인 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:153에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 다른 특정 구현예에서, LAG3 엑토도메인은 LAG3의 N-말단에서 유래된 적어도 430, 435, 438, 440, 445, 또는 450개 아미노산을 포함한다. 예를 들어, 특정 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:161에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 LAG3, LAG3 엑토도메인 또는 그의 임의의 LAG3 단편은 인간 LAG3이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:153에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 LAG3 엑토도메인이 제공된다.

[0103] 일부 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:154에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 다른 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:154에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:162에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 LAG3, LAG3 엑토도메인 또는 그의 임의의 LAG3 단편은 인간 LAG3이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:154에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 LAG3 엑토도메인이 제공된다.

[0104] 일부 구현예에서, 융합 단백질은 TIM3 엑토도메인을 포함하는 세포외 요소를 함유한다. 특정 구현예에서, TIM3 엑토도메인은 TIM3 단백질의 전체 길이 세포외 부분, TIM3 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포외 부분, TIM3 단백질의 세포외 부분의 결합 단편 또는 TIM3 단백질의 막통과 도메인의 부분과 함께 TIM3 단백질의 세포외 부분의 결합 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 TIM3, TIM3 엑토도메인 또는 그의 임의의 TIM3 단편은 인간 TIM3이다. 추가적인 구현예에서, GenBank Accession No. NM\_032782.4에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 TIM3 엑토도메인이 제공된다.

[0105] 추가적인 구현예에서, TIM3는 SEQ ID NO.:167에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 다른 특정 구현예에서, TIM3 엑토도메인은 TIM3의 N-말단에서 유래된 적어도 180, 185, 190, 195, 또는 200개 아미노산을 포함한다. 예를 들면, 특정 구현예에서, TIM3는 SEQ ID NO.:177에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화된다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 TIM3, TIM3 엑토도메인 또는 그의 임의의 TIM3 단편은 인간 TIM3이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:167에 명시된 핵산 문자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한

서열을 갖는 TIM3 엑토도메인이 제공된다.

[0106] 일부 구현예에서, TIM3는 SEQ ID NO.:168에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, TIM3는 SEQ ID NO.:178에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 앞선 구현예 중 어느 것에서도, 본 개시의 융합 단백질에서 사용되는 TIM3, TIM3 엑토도메인 또는 그의 임의의 TIM3 단편은 인간 TIM3이다. 추가적인 구현예에서, SEQ ID NO.:168에 명시된 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열을 갖는 TIM3 엑토도메인이 제공된다.

[0107] 결합 도메인은 관심이 되는 표적에 특이적으로 결합하는 어떠한 웹티드일 수 있다. 결합 도메인의 근원은 인간, 설치류, 조류 또는 양을 포함하는 다양한 종들로부터 유래된 항체 가변 영역(항체, sFvs, scFvs, Fabs, scFv 기반 "grababody", 또는 가용성 VH 도메인 또는 도메인 항체의 형태일 수 있음)을 포함한다. 결합 도메인의 추가적인 근원은 낙타다른 종의 항체의 가변 영역, 예를 들어 낙타(낙타, 단봉낙타, 라마로부터 유래; Ghahroudi *et al.*, *FEBS Lett.* 414:521, 1997; Vincke *et al.*, *J. Biol. Chem.* 284:3273, 2009; Hamers-Casterman *et al.*, *Nature* 363:446, 1993 및 Nguyen *et al.*, *J. Mol. Biol.* 275:413, 1998), 너스 샤크(nurse sharks)(Roux *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 95:11804, 1998), 은상어(spotted ratfish)(Nguyen *et al.*, *Immunogen.* 54:39, 2002), 또는 칠성장어(lamprey)(Herrin *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 105:2040, 2008 and Alder *et al.* *Nat. Immunol.* 9:319, 2008)와 같은 다른 종들로부터 유래된 항체의 가변 영역을 포함한다. 이러한 항체들은 오직 중사슬 가변 영역만을 이용한 항원 결합 영역을 형성할 수 있는데, 즉 이러한 기능적 항체들은 중사슬만의 호모다이머이다("중사슬 항체"라 지칭한다)(Jespers *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 22:1161, 2004; Cortez-Retamozo *et al.*, *Cancer Res.* 64:2853, 2004; Baral *et al.*, *Nature Med.* 12:580, 2006; 및 Barthélémy *et al.*, *J. Biol. Chem.* 283:3639, 2008).

[0108] 본 명세서의 비통상적인 결합 도메인의 대체적인 근원은, scTCR(see, e.g., Lake *et al.*, *Int. Immunol.* 11:745, 1999; Maynard *et al.*, *J. Immunol. Methods* 306:51, 2005; U.S. Patent No. 8,361,794), 피브리노겐 도메인(see, e.g., Weisel *et al.*, *Science* 230:1388, 1985), Kunitz 도메인(see, e.g., US Patent No. 6,423,498), 디자인된 ankyrin 반복 단백질(DARPins)(Binz *et al.*, *J. Mol. Biol.* 332:489, 2003 및 Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 22:575, 2004), 피브로넥틴 결합 도메인(어드넥틴(adnectin) 또는 모노바디(monobodies))(Richards *et al.*, *J. Mol. Biol.* 326:1475, 2003; Parker *et al.*, *Protein Eng. Des. Selec.* 18:435, 2005 및 Hackel *et al.* (2008) *J. Mol. Biol.* 381:1238-1252), 시스테인-놋(knot) 미니단백질(Vita *et al.* (1995) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 92:6404-6408; Martin *et al.* (2002) *Nat. Biotechnol.* 21:71, 2002 및 Huang *et al.* (2005) *Structure* 13:755, 2005), 테트라트리코웹티드 반복 도메인 (Main *et al.*, *Structure* 11:497, 2003 및 Cortajarena *et al.*, *ACS Chem. Biol.* 3:161, 2008), 고류신반복(leucine-rich repeat) 도메인(Stumpp *et al.*, *J. Mol. Biol.* 332:471, 2003), 리포칼린 도메인 (WO 2006/095164, Beste *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 96:1898, 1999 및 Schonfeld *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 106:8198, 2009 참조), V형(V-like) 도메인(예를 들면, US 특허출원 공개공보 No. 2007/0065431 참조), C형 렉틴 도메인(Zelensky 및 Gready, *FEBS J.* 272:6179, 2005; Beavil *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 89:753, 1992 및 Sato *et al.*, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. (USA)* 100:7779, 2003), mAb<sup>2</sup> 또는 Fcab<sup>TM</sup>(예를 들면, PCT 특허출원 공개공보 Nos. WO 2007/098934; WO 2006/072620 참조), 아르마딜로 반복 단백질(예를 들면, Madhurantakam *et al.*, *Protein Sci.* 21: 1015, 2012; PCT 특허출원 공개공보 No. WO 2009/040338 참조), 아필린(affilin)(Ebersbach *et al.*, *J. Mol. Biol.* 372: 172, 2007), 애피바디(affibody), avimers, knottins, fynomers, atrimers, 세포독성 T-리프트구 관련 단백질-4 (Weidle *et al.*, *Cancer Gen. Proteo.* 10:155, 2013) 또는 기타 등등(Nord *et al.*, *Protein Eng.* 8:601, 1995; Nord *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 15:772, 1997; Nord *et al.*, *Euro. J. Biochem.* 268:4269, 2001; Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 23:1257, 2005; Boersma 및 Pluckthun, *Curr. Opin. Biotechnol.* 22:849, 2011)과 같은 대체적인 비항체 스캐폴드의 루프 영역 내에서 아미노산의 조작된 다양성을 암호화하는 무작위의 웹티드 라이브러리 또는 서열을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0109] 일부 구현예에서, 결합 도메인은 V<sub>α/β</sub> 및 C<sub>α/β</sub> 사슬(예를 들면, V<sub>α</sub>-C<sub>α</sub>, V<sub>β</sub>-C<sub>β</sub>, V<sub>α</sub>-V<sub>β</sub>)을 포함하거나 또는 관심 표적(예를 들면, 웹티드-MHC 복합체 또는 웹티드-HLA 복합체)에 대해 특이적인 V<sub>α</sub>-C<sub>α</sub>, V<sub>β</sub>-C<sub>β</sub>, V<sub>α</sub>-V<sub>β</sub> 쌍을 포함하는 단일 사슬 T 세포 수용체 (scTCR)이다.

[0110] 특정 구현예에서, 결합 도메인은 TCR V<sub>α</sub>, V<sub>β</sub>, C<sub>α</sub> 또는 C<sub>β</sub>의 아미노산 서열을 갖는 분자의 엑토도메인에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도

96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 적어도 99.5% 또는 적어도 100% 동일한 서열이거나 이를 포함하며, 여기서 각각의 CDR은 관심 표적에 특이적으로 결합하는 TCR 또는 이의 단편 또는 유도체로부터 유래하는 0회의 변화(zero change) 또는 많아야 1, 2 또는 3회의 변화를 포함한다.

[0111] 특정 구현예에서, 본원의 결합 도메인  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\alpha$ , 또는  $C_\beta$  영역은 알려진 TCR (예를 들면, 고친화성 TCR)의  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\alpha$ , 또는  $C_\beta$ 로부터 유도되거나 기반을 둘 수 있고, 알려진 TCR의  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\alpha$ , 또는  $C_\beta$ 과 비교하였을 때 하나 이상의(예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) 삽입, 하나 이상의(예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) 결실, 하나 이상의(예를 들면, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) 아미노산 치환(예를 들면, 보존적 아미노산 치환 또는 비보존적 아미노산 치환), 또는 전술한 변화들의 조합을 함유할 수 있다. 삽입, 결실 또는 치환은 아미노- 또는 카르복시-말단 또는 이들 영역의 양쪽 말단을 포함하여  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\alpha$  또는  $C_\beta$  영역의 어느 곳에 도 있을 수 있으며, 각 CDR은 0개 또는 많아야 1개, 2개, 또는 3개의 변화를 포함하고, 야생형과 유사한 친화성을 갖는 그것의 표적과 보다 더 특이적으로 결합할 수 있는 변형된  $V_\alpha$ ,  $V_\beta$ ,  $C_\alpha$  또는  $C_\beta$  영역을 함유하는 결합 도메인이 제공된다. 특정 구현예에서, TCR은 약  $10\text{ }\mu\text{M}$ 에서 약  $500\text{ }\mu\text{M}$  범위의 웨티드-HLA 복합체에 대한 친화성을 갖는다. 추가적인 구현예에서, TCR은 약  $10\text{nM}$ 에서 약  $200\text{pM}$  범위의 웨티드-HLA 복합체에 대해 고친화성을 갖는다.

[0112] 특정 측면에서, 본원에 따른 융합 단백질은 표적(예를 들면, 리간드 또는 수용체)에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하고, 여기서 세포외 요소는 다양체화 도메인, 링커, 접합 아미노산 또는 이들의 조합과 같은 하나 이상의 다른 기능적 하위 구성요소 또는 도메인을 선택적으로 포함한다.

[0113] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질은 스페이서 또는 다양체화 도메인과 같은 결합 도메인 또는 결합 도메인으로부터 유도된 분자로부터 유도된 부분 이외에, 추가적인 세포외 영역을 더 포함한다. 예를 들면, 일부 측면에서 다양체화 도메인은 융합 단백질의 세포외 요소에 함유되거나 또는 그 일부이다. 예를 들어, 다양체화 도메인은 세포외 요소를 변경(예를 들면, 돌연변이)함으로써 생성될 수 있거나, 또는 다양체화 도메인은 1개 내지 약 50개의 아미노산 잔기를 세포외 요소에 첨가함으로써 생성될 수 있다. 다양체화 도메인은 세포외 요소의 결합 도메인과 융합 단백질의 소수성 요소 사이에 위치할 수 있다. 특정 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 융합 단백질은 세포외 요소 내에서 다양체화 도메인을 포함하고, 소수성 요소로부터 1 내지 50개의 아미노산 내로, 세포막에 인접한다. 예를 들어, 융합 단백질 다양체화 도메인은 융합 단백질 소수성 요소로부터 30, 25, 20, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 0개 아미노산 내에 위치하는 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함할 수 있는데, 여기서 하나의 융합 단백질에서 유래된 그러한 하나 이상의 시스테인 잔기는 하나 이상의 다른 융합 단백질과 함께 하나 이상의 이황화 다리(disulfide bridge)를 형성할 수 있다. 일부 구현예에서, 추가적인 세포외 부분은 융합 단백질의 막통과 또는 자극 영역으로부터 유래된 동일한 분자로부터 유래된다.

[0114] 추가적인 구현예에서, 둘 이상의 융합 단백질의 다양체화 도메인들 사이의 상호작용은 융합 단백질 모노머에 비해 신호 변환(예를 들면, 면역 세포 자극 또는 활성화)에 기여하거나 또는 효과적으로 촉진 시킨다. 특정 구현예에서, 융합 단백질의 다양체화는 융합 단백질 모노머에 비해 통계적으로 중요한 방법으로 숙주 세포 내의 신호 변환을 촉진시킨다. 추가적인 구현예에서, 숙주 세포 내에서 신호 변환을 촉진하거나 증강시키는 융합 단백질의 다양체화는 이황화 다리를 통해 이루어진다.

[0115] 예시적인 다양체는 "이량체"인데, 이는 서로 관련된, 두 개의 융합 단백질과 같은 두 개의 분자를 함유하는 생물학적 개체를 의미한다. 그러한 이량체는 2개의 관련 융합 단백질이 유사하거나 동일한 아미노산 서열을 가질 때 "동형이량체"로 간주된다. 유사하게, 실질적으로 또는 완전히 동일한 3개의 융합 단백질의 다양체화를 "동형 삼량체 (homotrimer)"라고 한다. 일부 구현예에서, 다양체화 도메인은 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하며, 여기서 제1 융합 단백질로부터 유래된 다양체화 도메인 시스테인 잔기는 제2 융합 단백질로부터 유래된 시스테인 잔기와 함께 이황화 다리를 형성할 수 있다. 다른 구현예에서, 융합 단백질 삼량체는 둘 이상의 이황화 다리를 통해 형성된다. 다르게는, 이량체, 동형이량체, 삼량체 또는 동형삼량체는 징크 핑거 모티프(zinc finger motif) 또는 류신 지퍼 모티프(leucine zipper motif)를 통해 다양체화될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질은 세포외, 세포내 또는 둘 모두에 위치할 수 있는 복수의 다양체화 도메인을 포함한다.

[0116] 일부 구현예에서, 융합 단백질의 세포외 요소에 함유된 다양체화 도메인은 소수성 요소으로부터 연장되는 세포외 부분을 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서 융합 단백질의 세포외 요소에 함유된 다양체화 도메인은 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 일부 구현예에서 CD28의 세포외 부분은 막통과

도메인에 인접한 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 25개까지의 아미노산을 포함한다. 잉르부 구현예에서, CD28의 세포외 부분은 막통과 도메인과 인접한 9개 아미노산 또는 12개 아미노산을 포함한다. 일부 구현예에서, CD28의 세포외 부분은 SEQ ID NO.:9에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, CD28의 세포외 부분은 SEQ ID NO.:32에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질의 세포외 요소 내에 함유된 다양체화 도메인은 CD137(4-1BB) 막통과 도메인으로부터 연장된 CD137(4-1BB)(예를 들면, 1 내지 약 50 아미노산의 범위)의 세포외 부분을 포함한다.

[0117] 특정 구현예에서, 다양체화 도메인과 소수성 요소는 다른 단백질들로부터 유래된다. 예를 들면, 융합 단백질의 세포외 요소 내에 함유된 다양체화 도메인은 CD137 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포외 부분을 포함하거나, 또는 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD137의 세포외 부분을 포함한다. 전술한 구현예 중 어느 것에서도, 다양체화 도메인은 글리코실화 부위를 더 포함할 수 있다.

[0118] 일부 구현예에서, 융합 단백질은, 예를 들면, 다양체화 도메인을 갖는 세포외 요소와 연결되거나, 또는 소수성 요소를 갖는 세포외 요소와 연결되거나, 또는 세포내 요소를 갖는 소수성 요소와 연결되는, 링커 또는 접합 아미노산을 함유할 수 있다. 일부 구현예에서, 링커는  $\text{Gly}_x\text{Ser}_y$ 이고, 여기서 x 및 y는 독립적으로 1 내지 5의 정수이다.

[0119] 표적 분자는 본원의 융합 단백질 내에 함유된 결합 도메인과 특이적으로 결합하는데, 이는 관심 세포("표적 세포")에서 발견되거나 또는 이와 연관될 수 있다. 예시적인 표적 세포는 면역 세포, 암 세포, 자가 면역 질병 또는 장애와 관련되거나 또는 염증성 질병 또는 장애와 관련된 세포, 감염성 유기체 또는 세포(예를 들면, 박테리아, 바이러스, 바이러스에 감염된 세포) 또는 MHC 또는 인간 백혈구 항원(HLA)과 복합된 항원을 제시하는 세포를 포함한다. 포유류 기생충과 같은 감염성 유기체의 세포도 표적 세포로 고려된다. 일부 구현예에서, 표적은 면역억제성 리간드이다. 일부 구현예에서, 표적은 CD47, CD58, CD80, CD86, CD95L(FasL), CD200, CD270(HVEM), CD274(PD-L1) 또는 GAL9에서 선택된다.

#### [0120] 세포내 요소

[0121] 본원의 융합 단백질에 함유된 세포내 요소는 세포에 기능적 신호를 전달할 수 있는 활성 도메인 또는 공동자극 도메인과 같은 세포내 신호전달 도메인을 가질 것이다. 특정 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 세포내 반응을 직접적으로 촉진시키는 하나 이상의 다른 단백질과 연결함으로써, 간접적으로 세포 반응을 촉진시킬 것이다. 세포내 신호전달 도메인은 1, 2, 또는 그 이상의 수용체 신호전달 도메인, 공동자극 도메인 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 다양한 신호전달 분자(예를 들면, 신호 전달 수용체)로부터 유래된 활성 도메인, 공동자극 도메인 또는 둘 다를 포함하는 어떠한 세포내 요소는 본원의 융합 단백질 내에서 사용될 수 있다.

[0122] 본 명세서에서 사용된, 세포 표면 수용체 또는 리간드로부터 유래된 "세포내 신호전달 도메인"은 완전한 세포내 도메인, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 부분, 또는 이들의 기능적(신호전달) 단편을 포함한다. 특정 구현 예에서, 세포내 신호전달 도메인은 야생형 또는 참조의 세포내 신호전달 도메인과 비교하여 증가된 신호전달 활성을 갖는 성숙한 세포내 도메인 또는 그의 기능적(신호전달) 단편을 포함한다.

[0123] 본원에서 사용되는 "공동자극 분자"는 T 세포로 신호를 전달하여 T 세포 활성화를 양성적으로 조절할 수 있는 수용체 또는 세포 표면 분자를 지칭한다(Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). 배경으로, T 세포 활성화와 증식은 T 세포 항원-특이적 수용체(TCR)와의 결합과 공동자극 신호, 가장 일반적으로 CD80과 CD86에 의한 CD28의 결합을 통해 중재된 두 가지 신호를 필요로 한다(Ledbetter *et al.*, *Blood* 75:1531, 1990).

[0124] 본원의 융합 단백질에서 유용한 세포내 신호전달 도메인 또는 이들의 기능적 단편은 CD3  $\epsilon$ , CD3  $\delta$ , CD3  $\zeta$ , CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD278 (ICOS), CD357 (GITR), CARD11, DAP10, DAP12, FcR  $\alpha$ , FcR  $\beta$ , FcR  $\gamma$ , Fyn, Lck, LAT, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, ROR2, Ryk, S1p76, pT  $\alpha$ , TCR  $\alpha$ , TCR  $\beta$ , TRIM, Zap70, PTCH2 또는 이들의 조합으로부터 유래될 수 있다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인 또는 이들의 기능적 단편은 주 신호를 포함하지 않는다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3  $\zeta$ 을 포함하지 않는다.

[0125] 일부 구현예에서, 본원의 융합 단백질의 세포내 신호전달 도메인은 CD28을 포함한다. CD28 신호전달은 TCR을 통해 자극된 T 세포의 증식을 촉진한다(Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). CD28은 막통과 도메인 근위의 시스테인 잔기의 결과로서 이황화물이 연결된 동형이 량체를 형성한다(Lazar-Molnar *et al.*, *Cell Immunol.* 244: 125-129, 2006). 특정 구현예에서, CD28 신호전달 도메인은 CD28 단백질의 전체 길이 세포

내 부분, CD28 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포내 부분, CD28 단백질의 세포내 부분의 신호전달 단편 또는 CD28의 막통과 도메인 또는 이들의 단편과 함께 CD28 단백질의 세포내 부분의 신호전달 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0126] 일부 구현예에서, 융합 단백질의 세포내 신호전달 도메인은 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 함유한다. CD137은 공동자극 분자인데, 여기서 *wherein binding of CD137의 그것의 리간드(4-1BBL 또는 CD137L)에 대한 결합은 T 세포 활성 및 증식과 관련된다(Cheuk et al., Cancer Gene Therapy 11: 215-226, 2004)*. 특정 구현예에서, CD137 신호전달 도메인은 CD137 단백질의 전체 길이 세포내 부분, CD137 단백질의 전체 길이의 성숙한 세포내 부분, CD137 단백질의 세포내 부분의 신호전달 단편 또는 CD137의 막통과 도메인 또는 이들의 단편과 함께 CD137 단백질의 세포내 부분의 신호전달 단편, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 특정 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 림프구 수용체 신호전달 도메인을 포함하거나 또는 하나 또는 복수의 면역수용체 티로신제 활성 모티프(ITAM)를 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인은 세포질 신호전달 단백질과 관련된 세포질 부분을 포함하는데, 여기서 세포질 신호전달 단백질은 림프구 수용체 또는 이들의 신호전달 도메인, 복수의 ITAM을 포함하는 단백질, 공동자극 인자, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0127] 일부 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200에 특이적으로 결합하는 CD200R의 세포외 부분을 포함하는 세포외 요소, CD28의 세포내 부분을 포함하는 세포내 요소, 및 세포외 및 세포내 요소들을 연결하는 소수성 요소를 포함하는 융합 단백질을 제공하며, 여기서 융합 단백질: 표적 복합체는 면역 시냅스 내의 두 세포막 사이의 거리와 유사한 거리에 걸친다.

[0128] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질의 세포내 요소는 CD28, CD137(4-1BB) 또는 둘 다를 포함한다. 예를 들어, 일부 구현예에서, 세포내 요소는 SEQ ID NO.:5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함한다. 다른 일부 구현예에서, 세포내 요소는 SEQ ID NO.:13에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 요소는 2개의 세포내 신호전달 도메인, 예를 들면, CD28 및 CD137(4-1BB)을 포함한다. 일부 구현예에서, 세포내 요소는 SEQ ID NO.:5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함하고, SEQ ID NO.:13에 명시된 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포함한다.

#### 소수성 요소

[0130] 본원의 단일 사슬 융합 단백질에 함유된 소수성 부분은 본 발명의 융합 단백질이 융합 단백질의 부분이 세포외로 위치하고, 부분이 세포내(예를 들면, 세포내 신호전달 도메인)로 위치하도록 세포막과 결합할 수 있게 한다. 소수성 요소는 일반적으로 세포막 인지질 이중층 내에 배치될 것이다. 특정 구현예에서, 하나 이상의 접합 아미노산은 소수성 부분과 세포내 신호전달 도메인 사이에서 연결하여 배치될 수 있다.

[0131] 특정 구현예에서, 소수성 도메인은 내재막단백질(예를 들어, 수용체, 분화클러스터 (CD) 분자, 효소, 전달체, 세포 접착 분자 등)으로부터 유도된 것과 같은 막통과 도메인이다. 일부 구현예에서, the 소수성 도메인은 내재막단백질에서 발견되거나 그로부터 유도되는데, 여기서 막통과 도메인은, 하나 이상의 아미노산의, 분자간 상호작용을 촉진하는 하전된 또는 친수성 잔기와 같은 적어도 하나의 다른 아미노산으로 첨가, 제거 또는 교체 또는 이들의 조합을 통해 변형된다. 따라서, 용어 "소수성 도메인"은 예를 들면, 소수성을 감소시킬 수 있는 변형을 갖는 막통과 도메인을 포함한다.

[0132] 일부 구현예에서, 소수성 요소는 CD2, CD3  $\epsilon$ , CD3  $\delta$ , CD3  $\zeta$ , CD25, CD27, CD28, CD40, CD47, CD79A, CD79B, CD80, CD86, CD95 (Fas), CD134 (OX40), CD137 (4-1BB), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD200R, CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD272 (BTLA), CD273 (PD-L2), CD274 (PD-L1), CD278 (ICOS), CD279 (PD-1), TIM3, CD300, CD357 (GITR), A2aR, DAP10, FcR  $\alpha$ , FcR  $\beta$ , FcR  $\gamma$ , Fyn, GAL9, KIR, Lck, LAT, LPA5, LRP, NKG2D, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PTCH2, ROR2, Ryk, S1p76, SIRP  $\alpha$ , pT  $\alpha$ , TCR  $\alpha$ , TCR  $\beta$ , TIM3, TRIM, 또는 Zap70의 막통과 도메인을 포함한다. 특정 구현예에서, 소수성 부분은 CD28, CD4, CD8, CD27, 또는 CD137(4-1BB)로부터 유래된 막통과 도메인이다. 특정 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:4에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 CD28 막통과 도메인이다. 다른 특정 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:3에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 CD200R 막통과 도메인이다. 또 다른 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:18에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 SIRP  $\alpha$  막통과 도메인이다. 추가적인 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:63에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 CD2 막통과 도메인이다. 더 추가적인 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:77에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 Fas 막통과 도메인이다. 더 추가적인 구현예에서,

막통과 도메인은 TIM3 막통과 도메인이다. 더 추가적인 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:169에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 TIM3 막통과 도메인이다. 더 추가적인 구현예에서, 막통과 도메인은 LAG3 막통과 도메인이다. 일부 구현예에서, 막통과 도메인은 SEQ ID NO.:155에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 LAG3 막통과 도메인이다.

#### [0133] 핵산 및 숙주 세포

특정 측면에서, 본원은 본원에 기재된 하나 이상의 융합 단백질을 암호화하는 provides 핵산 분자를 제공하며, 이는 면역조절 융합 단백질(IFPs)일 수 있다. 그러한 핵산 분자는 관심 숙주 세포(예를 들면, 조혈모세포, T 세포) 내의 도입을 위해 적절한 벡터(예를 들면, 바이러스 벡터 또는 비바이러스 플라스미드 벡터) 내로 삽입될 수 있다.

본원에서 사용된 용어 "재조합" 또는 "비자연적"은 적어도 하나의 유전자 변이 (alteration)를 포함하거나 외인성 핵산 분자의 도입에 의해 변형(modification)된 유기체, 미생물, 세포, 핵산 분자 또는 벡터를 말하며, 여기서 변이 또는 변형은 유전자 공학에 의해 도입된다. 유전적 변이는 예를 들어 단백질을 암호화하는 발현 가능한 핵산 분자, 융합 단백질 또는 효소, 또는 다른 핵사 분자에 대해 침가, 결실, 치환 또는 세포의 유전 물질에 기능적 붕괴를 도입하는 변형을 포함한다. 추가적인 변형은, 예를 들어, 변형이 유전자 또는 오페론의 발현을 변경시키는 비코딩 조절 영역을 포함한다. 특정 구현예에서, 대상으로부터 얻어진 T 세포와 같은 세포는 융합 단백질을 암호화하는 핵산을 도입함으로써 비자연 또는 재조합 T 세포(예를 들면, 비자연 또는 재조합 T 세포)로 전환될 수 있으며, 이로써 세포는 융합 단백질을 발현한다.

특정 구현예에서, 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 T 세포와 같은 특정 유형의 세포 내에서 발현을 증강시키거나 최대화할 수 있도록 코돈 최적화(codon optimized)될 수 있다(Scholten *et al.*, *Clin. Immunol.* 119: 135-145, 2006).

하나의 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200R-CD28 구조체(huCD200Rtm-CD28)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 CD200R 엑토도메인을 포함하고, 소수성 요소는 CD200R의 막통과 도메인을 포함하고, 세포내 요소는 CD28의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, SEQ ID NO.:1에 명시된 핵산 분자가 제공된다.

또 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200R-CD28 구조체(huCD200R-CD28tm)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함한다. 예를 들어, 하나의 구현예에서, 본원은 SEQ ID NO.:6에 명시된 핵산 분자를 제공한다.

다른 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200R-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 CD200R의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들어, CD200R 세포의 도메인은 9개 아미노산(예를 들면, huCD200R-9aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:7) 또는 12개 아미노산(예를 들면, huCD200R-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:10)에 의해 절단될 수 있다.

하나의 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200R-CD28-4-1BB 구조체(huCD200R-9aas-CD28Cystm-41BBic 또는 huCD200R-12aas-CD28Cystm-41BBic)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포내 요소는 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예를 들면, 하나의 구현예에서, 핵산 분자는 SEQ ID NO.:12 or SEQ ID NO.:14에 명시된 뉴클레오티드 서열을 갖는다.

또 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 CD200R-CD28-4-1BB 구조체(huCD200R-9aas-CD28Cys tm ic 41BBic 또는 huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic 41BBic)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포내 요소는 CD28과 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 하나의 구현예에서, 예를 들면, 본원의 핵산은 SEQ ID NO.:9 또는 SEQ ID NO.:15에 명시된 뉴클레오티드 서열을 갖는다.

다른 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP $\alpha$ -CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:16(huSIRP $\alpha$  tm-CD28) 또는 SEQ ID NO.:19 (huSIRP $\alpha$ -CD28tm)에 명시된 핵산 분자를 포함한다.

다른 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP $\alpha$ -CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 SIRP $\alpha$ 의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들면, SIRP $\alpha$  세포외 도메인은 12개 아미노산(예를 들면, huSIRP $\alpha$ -12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:20)에 의해 절단될 수 있다.

하나의 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP $\alpha$ -CD28-4-1BB 구조체(huSIRP $\alpha$ -12aas-CD28Cystm-41BBic)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포내 요소는 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 예를

들어, 하나의 구현예에서, 본원의 핵산은 SEQ ID NO.:22에 명시된 뉴클레오티드 서열을 갖는다.

[0145] 또 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP  $\alpha$ -CD28-4-1BB 구조체(huSIRP  $\alpha$ -12aas-CD28Cys tm ic-41BBic)를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포내 요소는 CD28과 CD137(4-1BB)의 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 하나의 구현예에서, 예를 들면, 본원의 핵산은 SEQ ID NO.:23에 명시된 뉴클레오티드 서열을 갖는다.

[0146] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 PD-1-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:97에 명시된 핵산 분자(huPD1-CD28Cys)를 포함한다.

[0147] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 PD-1-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 PD-1의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들면, PD-1 세포외 도메인은 12개 아미노산(예를 들면, huPD1-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:99), 15개 아미노산(예를 들면, huPD1-15aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:101), 또는 21개 아미노산(예를 들면, huPD1-21aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:103)에 의해 절단될 수 있다.

[0148] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 CD2-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:69에 명시된 핵산 분자(huCD2-CD28Cys)를 포함한다.

[0149] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 Fas-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:83에 명시된 핵산 분자(huFas-CD28Cys)를 포함한다.

[0150] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 Fas-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 Fas의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들면, Fas 세포외 도메인은 7개 아미노산(예를 들면, huFas-7aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:85) 또는 12개 아미노산(예를 들면, huFas-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:87)에 의해 절단될 수 있다.

[0151] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 TIM3-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:173에 명시된 핵산 분자(huTIM3-CD28Cys)를 포함한다. TIM3-CD28 융합 단백질도 또한 본원의 범위 내에 포함되는데, 여기서 세포외 요소는 TIM3의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들면, TIM3 세포외 도메인은 12개 아미노산(예를 들면, huTIM3-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:175)에 의해 절단될 수 있다.

[0152] 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 LAG3-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본원은 SEQ ID NO.:163 (huLAG3-CD28Cys)에 명시된 핵산 분자를 포함한다. LAG3-CD28 융합 단백질이 또한 본원의 범위에 포함되며, 여기서 세포외 요소는 LAG3의 절단된 세포외 도메인 및 CD28의 세포외 부분이다. 예를 들어, LAG3 세포외 도메인은 12 개의 아미노산에 의해 절단될 수 있다 (예를 들어, huLAG3-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:159).

[0153] 여기에서, 코이 바이러스를 암호화하는 벡터를 "바이러스 벡터"라고 칭한다. 인간 유전자 치료 적용을 위해 확인된 것을 포함하는, 여기에 개시된 조성물의 용도에 적합한 수많은 가능한 바이러스 벡터들이 있다 (Pfeifer and Verma, Ann. Rev. Genomics Hum. Genet. 2:177, 2001). 적합한 바이러스 벡터는 예를 들어 몰로니 마우스 백혈병 바이러스 (MLV)-유래 벡터들인 레트로바이러스-유래 벡터와 같은 RNA 바이러스 기반 벡터, 및 예를 들어 렌티바이러스-유래 벡터들인 더욱 복잡한 레트로바이러스-유래 벡터들을 포함한다. HIV-1-유래 벡터가 이러한 카테고리에 속한다. 다른 예시들은 HIV-2로부터 유래한 렌티바이러스 벡터, FIV, 말 전염성 빈혈 바이러스, SIV, 및 메디-비스나 바이러스 (양 렌티바이러스)를 포함한다. 레트로바이러스 및 렌티바이러스를 사용하는 방법 및 키메릭 항원 수용체 이식 유전자를 함유하는 바이러스 입자를 포유동물 숙주 세포에 형질도입하기 위해 세포를 패키징하는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어 U.S. Patent 8,119,772; Walchli et al., PLoS One 6:327930, 2011; Zhao et al., J. Immunol. 174:4415, 2005; Engels et al., Hum. Gene Ther. 14:1155, 2003; Frecha et al., Mol. Ther. 18:1748, 2010; Verhoeven et al., Methods Mol. Biol. 506:97, 2009에서도 종래 기술된 바 있다. 레트로바이러스 및 렌티바이러스 벡터 구조체 및 발현 시스템 역시 상업적으로 이용 가능하다.

[0154] 특정 구현예에서, 바이러스 벡터는 융합 단백질을 암호화하는 비-내인성 핵산 또는 표적에 특이적인 융합 단백질을 암호화하는 비-내인성 핵산을 도입하는 데에 사용된다. 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터 또는 렌티바이러스 벡터일 수 있다. 바이러스 벡터는 또한 형질도입을 위한 마커를 암호화하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터를 위한 형질도입 마커는 당업계에 알려져 있으며, 약물 저항성을 부여할 수 있거나, 또는 형광 마커와 같이 탐지가능한 마커일 수 있거나, 또는 유세포분석과 같은 방법에 의해 탐지될 수 있는 세포 표

면 마커인 선별 마커를 포함한다. 특정 구현예에서, 바이러스 벡터는 녹색 형광 단백질(GFP)를 포함하는 형질도입 유전자 마커, 인간 CD2의 세포의 도메인, 또는 절단된 인간 EGFR (huEGFRt; Wang *et al.*, *Blood* 118:1255, 2011)을 포함한다. 바이러스 벡터 계놈이 숙주 세포 내에서 분리된 전사체로 발현되는 복수의 핵산 서열을 포함하는 경우, 바이러스 벡터는 바이시스트로닉(bicistronic) 또는 멀티시스트로닉(multicistronic) 발현을 가능하게 하도록 두 전사체들 (또는 그 이상의) 사이에 추가적인 서열을 또한 포함할 수 있다. 바이러스 벡터에서 사용되는 그러한 서열들의 예시는 내부 리보솜 진입 부위(IRES), 퓨린(furin) 절단 부위, 바이러스 2A 웹티드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0155] 폴리뉴클레오티드 전달을 위해 사용될 수 있는 다른 벡터들은, 예를 들어 아데노바이러스-기반 벡터 및 아데노-관련 바이러스(AAV)-기반 벡터; 앰플리콘 벡터, 복제-불능 HSV 및 약독화 HSV (Krisky *et al.*, *Gene Ther.* 5: 1517, 1998)를 포함하는, 헤르페스 단순포진 바이러스로부터 유래된 벡터를 포함하는 DNA 바이러스 벡터를 포함한다.

[0156] 유전자 치료 용도로 최근 개발된 다른 벡터 또한 본원의 조성물 및 방법과 함께 사용될 수 있다. 그러한 벡터들은 배클로바이러스 및  $\alpha$ -바이러스로부터 유래한 것 (Jolly, D J. 1999. *Emerging Viral Vectors*. pp 209-40 in Friedmann T. ed. *The Development of Human Gene Therapy*. New York: Cold Spring Harbor Lab), 또는 플라스미드 벡터 (슬리핑 뷰터 또는 다른 트랜스포존 벡터와 같은)를 포함한다. 일부 구현예에서, 바이러스 또는 플라스미드 벡터는 형질도입을 위한 유전자 마커를 더 포함한다 (예를 들어, 녹색 형광 단백질, huEGFRt).

[0157] 일부 구현예에서, 여기에 기술된 융합 단백질을 암호화하는 벡터는 하나 이상의 융합 단백질을 암호화할 수 있다. 예를 들어, 벡터는 두 개의 상이한 융합 단백질을 암호화할 수 있다 (예를 들어, PD-1 엑토도메인을 포함하는 제 1 융합 단백질 및 TIM3 엑토도메인을 포함하는 제 2 융합 단백질).

[0158] 일부 구현예에서, 여기에 기술된 융합 단백질을 암호화하는 벡터는 항원-특이적 TCR을 더 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 항원-특이적 TCR은 외인성이다. 일부 구현예에서, 항원-특이적 TCR은 HLA (MHC) 클래스 I 제한 항원이다. 일부 구현예에서, 항원은 암-특이적 항원이다. 암-특이적 항원이 WT-1, 메소텔린 또는 사이클린-A1을 포함하는 구현예들이 또한 본원의 범위에 들어간다. 또다른 구현예에서, 여기에 기술된 융합 단백질을 암호화하는 벡터는, CD200, CD47, PD-L1, 또는 CD58일 수 있는 리간드를 더 암호화한다. 또다른 구현예에서, 여기에 기술된 융합 단백질을 암호화하는 벡터는 내인성 수용체의 발현을 감소시키기 위한 siRNA를 더 암호화한다. 일부 특정 구현예에서, 내인성 수용체는 CD200R, SIRP  $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD95 (Fas) 또는 CD2 이다.

[0159] 일부 구현예에서, 세포 표면에서 본원의 융합 단백질을 발현할 수 있는 숙주 세포는 면역 세포이다. 일부 구현예에서, 세포 표면에서 본원의 융합 단백질을 발현할 수 있는 숙주 세포는, 인간, 생쥐, 래트 또는 다른 포유동물로부터 유래된 1 차 세포 또는 세포주를 포함하는 T 세포이다. 포유동물로부터 수득되는 경우, T 세포는 혈액, 끌수, 림프절, 갑상선 또는 다른 조직 또는 액체를 포함하는 수많은 원료들로부터 얻을 수 있다. T 세포는 농축되거나 정제될 수 있다. T 세포주들은 당업계에 잘 알려져 있으며, 그 중의 일부가 Sandberg *et al.*, *Leukemia* 21:230, 2000에 기술되어 있다. 특정 구현예에서, TCR  $\alpha$  및  $\beta$  사슬의 내인성 발현이 결여된 T 세포가 사용된다. 그러한 T 세포는 자연적으로 TCR  $\alpha$  및  $\beta$  사슬의 발현이 결여되었을 수도 있고, 발현이 차단되거나 (예를 들어, TCR  $\alpha$  및  $\beta$  사슬을 발현하지 않는 유전자 조작 생쥐로부터의 T 세포 또는 TCR  $\alpha$  및  $\beta$  사슬의 발현이 억제되도록 조작된 세포) 또는 TCR  $\alpha$  사슬, TCR  $\beta$  사슬 또는 두 유전자 모두가 녹아웃되도록 조작된 것일 수 있다.

[0160] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하도록 형질감염된 세포는, 바이러스-특이적 T 세포, 종양 항원 특이적 세포독성 T 세포, 나이브 T 세포, 메모리 줄기 T 세포, 중심 또는 이펙터 기억 T 세포,  $\gamma\delta$  T 세포, 또는 CD4+ CD25+ 조절 T 세포와 같은 기능성 T 세포이다. 추가적인 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 벌크 CD8+ T 세포, 나이브 CD8+ T 세포, CD8+ T<sub>CM</sub> 세포, CD8+ T<sub>EM</sub> 세포, 또는 이들의 임의의 조합 내로 도입된다. 또다른 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 벌크 CD4+ T 세포, 나이브 CD4+ T 세포, CD4+ T<sub>CM</sub> 세포, CD4+ T<sub>EM</sub> 세포, 또는 이들의 임의의 조합 내로 도입된다. 다른 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 나이브 CD8+ T 세포 및 CD8+ T<sub>CM</sub> 세포로 농축된 T 세포의 집단 내로 도입된다. 또다른 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 나이브 CD4+ T 세포 및 CD4+ T<sub>CM</sub> 세포로 농축된 T 세포의 집단 내로 도입된다. 상기 구현예들에서, T 세포는 조작된 항원-특이적 T 세포 수용체 (TCR), 조작된 항원-특이적 고친화성 TCR, 외인성 공동-자극 분자, 키메릭 항원 수용체(CAR), 또는 이들의 조합을 암호화하는 핵산 분자를 더 함유한다.

[0161] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하도록 형질감염되는 숙주 세포는 기능성 자연 킬러 세포이다.

[0162] 본원의 융합 단백질을 발현하는 T 세포의 증식을 촉진하는 하나 또는 그 이상의 성장 인자 사이토카인이 T 세포의 증식을 위한 배양에 첨가될 수 있다. 사이토카인은 인간 또는 비-인간의 것일 수 있다. T 세포 증식을 촉진하기 위해 사용될 수 있는 예시적인 성장 인자 사이토카인은 IL2, IL15 등을 포함한다.

[0163] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하기 위해 형질감염되는 숙주 T 세포는, HLA (MHC) 클래스 I 제한 항원에 특이적인 항원-특이적 고친화성 TCR을 또한 발현하는 CD4<sup>+</sup> T 세포이다 (Soto *et al.*, *Cancer Immunol Immunother.* 62: 359-369, 2013).

[0164] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하기 위해 형질감염되는 숙주 T 세포는, 암 항원에 특이적인 재조합 TCR을 또한 발현한다. 일부 구현예에서, 암 항원은 WT1이다. "WT1"은 윌름즈종양 1(Wilm's tumor 1)을 지칭하며, C-말단에 네 개의 아연-평거 모티프 및 N-말단에 프롤린/글루타민-풍부 DNA 결합 도메인을 함유하는 전사 인자이다. WT1은 비뇨생식기계통의 정상적인 발달에 중요한 역할을 하며, 윌름즈종양을 가지는 환자의 작은 하위 집합에서 돌연변이된다. 유방암, 난소암, 급성 백혈병, 혈관 신생물, 흑색종, 결장암, 폐암, 갑상선암, 뼈 및 연조직 육종 및 식도암을 비롯한 다양한 암에서 WT1의 높은 발현이 관찰되었다. 선택적 스플라이싱 (alternative splicing)이 WT1에서 주목되어왔다.

[0165] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하도록 형질감염되는 숙주 T 세포는 메소텔린에 특이적인 재조합 TCR을 또한 발현한다. "메소텔린 (MSLN)"은 거핵구 강화 인자 (megakaryocyte potentiating factor) 및 메소텔린의 두 산물로 나뉘는 전구 단백질을 암호화하는 유전자를 지칭한다. 거핵구 강화 인자는 골수 거핵구에서 콜로니 형성을 자극하는 사이토카인으로서의 기능을 한다. 메소텔린은 세포 부착 단백질로서 기능할 수 있는 글리코실포스파티딜이노시톨-고정(anchored) 세포-표면 단백질이다. 이 단백질은 상피 중피종(epithelial mesothelioma), 난소암 및 특발성 편평상피세포암에서 과발현된다. 선택적 스플라이싱은 다수의 전사체 변이를 유발한다.

[0166] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하도록 형질감염되는 숙주 세포는 사이클린-A1에 특이적인 재조합 TCR을 또한 발현한다.

[0167] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하도록 형질감염되는 숙주 세포는 CAR를 또한 발현한다.

[0168] 또다른 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하는 숙주 세포는 CD200, CD47, PD-L1 또는 CD58 일 수 있는 리간드를 추가로 포함한다. 또다른 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하는 숙주 세포는 내인성 수용체의 발현을 감소시키기 위한 siRNA를 또한 발현한다. 일부 특정 구현예에서, 내인성 수용체는 CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD95 (Fas), 또는 CD2이다.

[0169] 일부 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 발현하는 숙주 세포는 하나 이상의 융합 단백질을 발현할 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 두 개의 상이한 융합 단백질을 발현할 수 있다 (예를 들어, PD-1 엑토도메인을 포함하는 제 1 융합 단백질 및 TIM3 엑토도메인을 포함하는 제 2 융합 단백질).

[0170] 용도

[0171] 본원에서 기술된 융합 단백질을 발현하는 세포에 의해 치료될 수 있는 질병은 암, 감염성 질환 (바이러스성, 세균성, 원충 감염성), 면역 질환 (예를 들어, 자가면역) 또는 노화-관련 질병 (예 : 노화)을 포함한다. 입양 면역 및 유전자 치료는 다양한 유형의 암 (Morgan *et al.*, *Science* 314:126, 2006; Schmitt *et al.*, *Hum. Gene Ther.* 20:1240, 2009; June, *J. Clin. Invest.* 117:1466, 2007) 및 감염성 질환 (Kitchen *et al.*, *PLoS One* 4:38208, 2009; Rossi *et al.*, *Nat. Biotechnol.* 25:1444, 2007; Zhang *et al.*, *PLoS Pathog.* 6:e1001018, 2010; Luo *et al.*, *J. Mol. Med.* 89:903, 2011)에 대한 유망한 치료법이다

[0172] 고형 종양 및 백혈병을 비롯한 다양한 암이 본원에 개시된 조성물 및 방법에 적용될 수 있다. 치료될 수 있는 예시적인 유형의 암은 유방, 전립선 및 결장의 선암; 폐의 모든 형태의 기관지 암종; 골수성 백혈병; 흑색종; 간암; 신경모세포종; 유두종; 간질종; 창상종; 새열종 (branchioma); 악성 카르시노이드 증후군; 카르시노이드 성 심장병; 및 상피성 암 (예를 들어, 워커(Walker), 기저세포, 기저편평세포(basosquamous), 브라운-피어스 (Brown-Pearce), 관(ductal), 에를리히 종양, 크렙스(Krebs) 2, 메르켈(Merkel) 세포, 점액성, 비소 세포 폐, 귀리세포, 유두암, 경성암, 세기관지, 세기관지, 편평세포, 및 이행 세포)을 포함한다. 치료될 수 있는 추가 유형의 암에는 조직구 장애; 악성 조직구증; 백혈병; 호지킨병; 면역 증식성 소; 비호지킨 림프종; 형질세포종; 망상내피 증; 흑색종; 연골모세포종; 연골종; 연골육종; 섬유종; 섬유육종; 거대 세포 종양; 조직구종; 지방종;

지방육종; 중피종; 점액종; 골종; 골육종; 척골종; 두개인두종; 이종기종; 과오종; 중간엽종; 중신종; 근육육종; 모세혈관종; 백악종; 치아종; 기형종; 흉선종; 영양막세포종을 포함한다. 또한, 다음과 같은 유형의 암이 또한 치료에 적합한 것으로 고려된다: 선종; 담관종; 진주종; 시클린드로마; 낭포선암; 낭선종; 과립막세포종; 남녀성세포함유종; 간암; 진피종; 췌도 세포 종양; 라이딕 (Leydig) 세포 종양; 유두종; 세르톨리 세포 종양; 난포막 세포 종양; 평활근종; 평활근 육종; 근육모세포종; 근종; 근육종; 횡문근종; 횡문근 육종; 뇌실막세포종; 신경절신경종; 신경교종; 수모세포종; 수막종; 신경초종; 신경모세포종; 신경상피세포종; 신경섬 유종; 신경종; 부신경절종; 비크롬친화성 신경절종. 치료될 수 있는 암의 종류는 또한 혈관 각화종; 호산구 증 가증을 동반한 혈관립프증식증; 혈관종 경화증; 혈관 종증; 사구맥관종; 혈관 내피종; 혈관종; 혈관주위세포 종; 혈관육종; 임파선종; 림프관 근종; 림프관 육종; 송파선종; 암육종; 연골육종; 낭성엽상육종; 섬유육종; 혈관육종; 평활근육종; 백혈육종; 지방육종; 림프관 육종; 근육 육종; 점액 육종; 난소 암종; 횡문근 육종; 육종; 신생물; 신경섬유종증; 및 자궁 경부 형성 이상을 포함한다.

[0173] 융합 단백질 T 세포 치료에 적합한 다양한 과증식성 장애의 예시는, B-세포 림프종 (다양한 형태의 호지킨병, 비호지킨 림프종 (NHL) 또는 중추 신경계 림프종과 같은), 백혈병 (급성 림프모구 백혈병 (ALL), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 텔세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병의 B 세포 아세포 전환과 같은) 및 골수종 (다발성 골수종과 같은)을 포함하는 B-세포 암이다. 추가적인 B-세포 암은 소립프구성 림프종, B-세포 전립프구성 백혈병, 림프형 질세포성 림프종, 비장 경계 영역 림프종, 혈장 세포 골수종, 뼈의 고립성 형질세포종, 골외성 형질 세포종, 점막 연관 (MALT) 림프 조직의 림프절 외 변연부 B-세포 림프종, 림프절 변연부 B-세포 림프종, 소포림프종, 맨틀 세포 림프종, 미만성 대 B-세포 림프종, 종격(흉선) 대 B-세포 림프종, 혈관 내 대 B-세포 림프종, 일차 삼출성 림프종, 버킷 림프종/백혈병, 불확실한 악성 잠재성 B-세포 증식, 림프종모양육아종증, 및 이식후 림프 증식성 장애를 포함한다.

[0174] 염증성 및 자가면역 질환은 관절염, 류마티스성 관절염, 연소성 류마티스 관절염, 골관절염, 다발성 연골염, 건선 관절염, 건선, 피부염, 다발성 근염 / 피부 근육염, 봉입체 근염, 염증성 근염, 독성 표피 괴사, 전신성 경화증 및 경화증, CREST 증후군, 염증성 장 질환, 크론병, 궤양성 대장염, 호흡 곤란 증후군, 성인 호흡 곤란 증후군 (ARDS), 수막염, 뇌염, 포도막염, 대장염, 사구체 신염, 알레르기성 질환, 습진, 천식, T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응에 연관된 질환, 죽상 동맥 경화증, 자가면역 심근염, 백혈구 부착 결핍증, 전신성 흥반성 루푸스 (SLE), 아급성 피부 홍반 루푸스, 원발성 루푸스, 루푸스성 척수염, 루푸스성 뇌염, 청소년 발병 당뇨병, 다발성 경화증, 알레르기성 뇌염, 시신경척수염, 류마티스성 열, 시데남 무도병, 사이토카인 및 T-림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연 과민반응과 연관된 면역반응, 결핵, 사르코이드증, 베게너 육아종증 및 척-슈트라우스 병을 포함한 육아종, 무과립구증, 혈관염 (과민성 혈관염/맥관염, ANCA 및 류마티스 혈관염 포함), 재생 불량성 빈혈, 다이아몬드 블랙판 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈 (AIHA)을 포함하는 면역 용혈성 빈혈, 악성 빈혈, 순수 적혈구 결핍 (PRCA), 인자 VIII 결핍증, 혈우병 A, 자가 면역 호중구 감소증, 범 혈구 감소증, 백혈구 감소증, 백혈구 침윤과 관련된 질환, 중추 신경계 염증 질환, 다발성 장기 손상, 중증 근무력증, 항원-항체 복합체 매개 질병, 항-사구체 기저막 질환, 항-인지질 항체 증후군, 알러지성 신경염, 베체트병, 캐슬맨씨병, 굿파스처 증후군, 람베르트-이튼 근무력 증후군, 레이노 증후군, 쇼그렌 증후군, 스티븐스-존슨 증후군, 고형 장기 이식 거부, 이식편대숙주병(GVHD), 물집유사천포창, 천포창, 자가면역 다발성내분비병증, 혈청인자음성 척추관절증, 라이터병, 강직인간 증후군, 거대 세포 동맥염, 면역 복합체 신염, IgA 신병증, IgM 다발성 신경병증 또는 IgM 매개 신경병, 특발성 혈소판 감소 자반병 (ITP), 혈전성 혈소판 감소성 자반병 (TTP), 혜노호 쉰라인 자반증, 자가 면역 혈소판 감소증, 자가 면역 고환염 및 난소염을 포함하는 정소 및 자궁의 자가면역질환, 일차성 갑상선 기능 저하증; 자가면역 갑상선염, 만성 갑산선염 (하시모토 갑상선염), 아급성 갑상선염, 특발성 갑상선 기능 저하증, 애디슨 병, 그레이브 병, 자가 면역 다선 증후군 (또는 다분비성 내분비 증후군), 인슐린-의존성 당뇨병 (IDDM)이라고도 불리는 제 1 형 당뇨병 및 쉬한 증후군을 포함하는 자가면역 내분비 질환; 자가면역성 간염, 림프성 간질성 폐렴 (HIV), 폐색성 세기관지염 (비-이식), 비특이 간질 폐렴 (NSIP), 궤랑-바레 증후군, 대혈관 혈관염 (류마티스성 다발근통 및 거대세포 (Takayasu's) 혈관염 포함), 중혈관 혈관염 (카와사키 병 및 결절성 다발 동맥염 포함), 결절성 다발 동맥염 강직성 척추염, 베거씨병 (IgA 신병증), 급성 진행성 사구체 신염, 원발성 담즙성 간경화, 실리악 스프루 (글루텐 장염), 저온글로불린혈증, 간염과 연관된 저온글로불린혈증, 근위축성 측색 경화증 (ALS), 관상 동맥 질환, 가족성 지중해성 발열, 혈미경 다발성 혈관염, 코간 증후군, 위스콧 - 알드리치 증후군 및 폐쇄성 혈전혈관염을 포함한다.

[0175] 특정 구현예에서, 본원의 융합 단백질을 이용해 대상을 치료하는 방법은 급성 골수성 백혈병, 급성 림프성 백혈병, 및 만성 골수성 백혈병을 포함한다.

[0176] 감염성 질병은 감염성 물질과 관련된 것을 포함하며 다양한 박테리아 (예를 들어, 병원성 *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *B. anthracis*, *C. botulinum*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *H. pylori*, *V. cholerae*, *Listeria spp.*, *Rickettsia spp.*, *Chlamydia spp.* 등), 마이코박테리아 및 기생충 (원생 동물의 알려진 기생충 멤버 포함)을 포함한다. 감염성 바이러스는, 아데노바이러스, 분야바이러스, 헤르페스바이러스, 파포바바이러스, 유두종바이러스 (예를 들어, HPV), 패러믹소바이러스, 피르코나바이러스, 라보바이러스 (예를 들어, 광견병), 오소믹소바이러스 (예를 들어, 인플루엔자), 폭스바이러스 (예를 들어, 백시니아), 레오바이러스, 레트로바이러스, 렌티바이러스 (예를 들어, HIV), 플라비바이러스 (예를 들어, HCV, HBV) 등과 같은 진핵세포 바이러스를 포함한다. 특정 구현예에서, 항원이 처리되고 HLA (MHC) 클래스 I 분자로 표시되는 세포질 병원체에 의한 감염이 본원의 융합 단백질로 치료된다.

[0177] 본원의 융합 단백질은 세포-결합 형태로 대상에 투여될 수 있다 (예를 들어, 표적 세포 집단 (성숙 T 세포 (예를 들어, CD8<sup>+</sup> 또는 CD4<sup>+</sup> T 세포) 또는 T 세포의 다른 계통)의 유전자 치료). 특정 구현예에서, 대상에 투여되는 융합 단백질을 발현하는 T 세포 계통의 세포는 동족, 동종 또는 자가 세포이다.

[0178] 본원의 융합 단백질을 포함하는 약학적 조성물은 의학 분야의 통상의 기술자에 의해 결정된 대로 치료 (또는 예방)될 질병 또는 질환에 적합한 방식으로 투여될 수 있다. 조성물의 적절한 투여량, 적합한 지속 시간 및 투여빈도는 환자의 상태, 크기, 질병의 유형 및 중증도, 활성 성분의 특정 형태 및 투여 방법과 같은 인자에 의해 결정될 것이다. 본원은 본원에 개시된 것과 같은 융합 단백질을 발현하는 세포 및 약학적으로 허용가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 적합한 부형제는 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 등 및 이의 조합을 포함한다.

[0179] 일부 구현예에서, 본원은 면역 세포의 활성을 증가시키거나, 면역 반응을 강화 또는 연장시키거나, 항원-특이적 T 세포 반응을 자극하거나, 면역 억제 신호전달 경로를 억제하거나, 암 또는 종양을 치료하거나, 암세포의 면역 저항성을 억제하거나, 또는 감염을 치료하는 방법에 관한 것이며, 본원에 기술된 융합 단백질을 발현하는 숙주 세포의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함한다. 추가적인 구현예에서, 전술한 임의의 방법에서 사용하기 위한 숙주 세포는 조작된 항원-특이적 TCR, 조작된 항원-특이적 고친화성 TCR, CAR, 공동-자극 분자 또는 이들의 임의의 조합을 더 발현한다.

[0180] 일부 구현예에서, CD4+ T 세포에 의한 클래스 I HLA 반응을 유도하거나 증강시키는 방법이 제공되며, 여기에 기술된 융합 단백질을 발현하는 CD4+ T 세포의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함한다. 추가적인 구현예에서, CD4+ T 세포에 의한 클래스 I HLA 반응을 유도하거나 증강시키는 데에 사용하기 위한 숙주 세포는 조작된 항원-특이적 TCR, 조작된 항원-특이적 고친화성 TCR, CAR, 공동-자극 분자 또는 이들의 임의의 조합을 더 발현한다.

[0181] 전술한 임의의 구현예에서, 상기 방법은 외인성 IL-2의 투여 없이도 효과적이다.

[0182] 또다른 구현예에서, 전술한 임의의 방법의 대상은, 화학 요법과 같은 보조 요법에 의해 추가로 치료된다. 예시적인 화학요법제는, 예를 들어, 디오테파 및 사이클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부설판, 임프로설판 및 퍼포설판과 같은 알킬설포네이트; 벤조도파, 카보큐온, 메튜레도파, 및 우레도파와 같은 아지리딘; 에틸렌이민 및 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리틸레네포스포라미드, 트리에틸렌티오포스파오아미드 및 트리메틸로로멜라민을 포함하는 메틸라멜라민; 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라머스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비친, 페네스테린, 프레드니머스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 카머스틴, 클로로조토신, 포테머스틴, 로머스틴, 니머스틴, 라니머스틴과 같은 나이트로요소(nitrosureas); 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캐티노마이신, 칼리시미신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신, 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 마이토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠에라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투메시딘, 유베니벡스, 지노스타틴, 코루비신과 같은 항생제; 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU)와 같은 항-대사물질; 데노프테린, 메토트렉세이트, 프데로프테린, 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라바인, 6-미캡토퓨린, 티아미프린, 티오구아닌과 같은 퓨린 유사체; 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카르모푸어, 시타라바인, 디데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록시유리딘, 5-FU와 같은 피리미딘 유사체, 칼루스테론, 드로모스타노론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤과 같은 안드로겐; 아미노글루테티미드, 미토테인, 트릴로스테인과 같은 항-아드레날; 프롤리닉산과 같은 엽산 보충물; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼리닉산;

암사크라인; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜친; 디아지퀴온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 갈륨 나이트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 폐나메트; 피라루비신; 포도필리닉산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSKTM; 라죽세인, 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아조익산; 트리아지퀴온; 2, 2', 2''-트리클로로트리에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카바진; 만노머스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 티오텐파; 탁산, 예를 들어 패클리탁셀 (Taxol™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) 및 도세탁셀 (Taxotere™, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로람부실; 쟈시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토퓨린; 메토트렉세이트; 시스플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 유사체; 빈블라스틴; 플래티늄; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미토마이신 C; 미톡산트론; 빈그리스틴; 비노렐빈; 나벨빈; 노반트론; 테니포시드; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸로니틴 (DMFO); 레티노산; 에스페라미신, 카페시타빈; 및 상술한 임의의 물질의 약학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체를 포함한다.

[0183] 일부 구현예에서, 보조 요법은 백신, 면역 억제 신호의 억제제, B-Raf 억제제, MEK 억제제, 티로신 키나아제 억제제, 세포독성제, 화학요법제, 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 구현예에서, 면역 억제 신호의 억제제는 항체 또는 siRNA이다. 일부 구현예에서, 항체 또는 siRNA는 PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, LAG3, KIR, CD244, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, TIM3, A2aR, 또는 이들의 임의의 조합에 특이적이다.

[0184] 실시예

[0185] 실시예 1

[0186] CD200R-CD28 융합 단백질 구축

[0187] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질의 개략도가 도 1a에 나타나 있다. 예시적인 융합 단백질은 CD200R의 세포 외 도메인 또는 그의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인 또는 그의 부분을 포함하는 면역조절 융합 단백질 (immunomodulatory fusion proteins, IFPs)을 포함한다 (도 1a, 구조 I 내지 V). 소수성 요소는 CD200R (도 1a, 구조 I) 또는 CD28 (도 1a, 구조 II 내지 V), 또는 이들의 부분 각각의 막통과 도메인에 포함될 수 있다. 몇몇 예시적인 CD200R-CD28 융합 단백질에서, 소수성 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하며 세포외 요소는 CD28의 세포외 부분, 특히 소수성 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, 도 1a의 구조 III, CD200R-CD28Cys; 구조 IV, CD200R-3aas-CD28Cys; 및 구조 V, CD200R-9aas-CD28Cys)를 더 포함한다.

[0188] 몇몇 구현예에서, 세포외 요소는 CD200R의 세포외 도메인 전체를 포함한다 (도 1a, 구조 I 내지 III). 다른 예시에서, 세포외 요소는 CD200R의 N-말단으로부터 최초 235 아미노산 (N-연결된 글리코실화 부위를 보존함) (예를 들어, 도 1a, 구조 IV, CD200R-3aas-CD28Cys) 또는 최초 229 아미노산 (예를 들어, 도 1a, 구조 V, CD200R-9aas-CD28Cys)을 포함한다. 융합 단백질의 구조를 조절함으로써 제조될 수 있는 세포외 요소의 크기는, 면역 시냅스 내로의 진입과 cSMAC 내에서 TCR와의 공동-편재에 따른 강한 공동-자극 신호의 전달에 영향을 미칠 수 있다. 추가적으로, CD200R-CD28 구조는 CD200R이 그의 표적에 결합함으로써 나오는 전형적인 억제 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 신호로 전환할 수 있는 능력을 가진다.

[0189] CD200R-CD28 융합 단백질을 암호화하는 예시적인 핵산 분자는 이하의 요소를 포함한다 (5'에서 3'): 세포외 요소 (CD200R)-다량체화 도메인 (CD28 시스테인)-소수성 요소 (CD28 막통과)-세포내 요소 (CD28 세포내). 몇몇 구현예에서, CD200R-CD28 융합 단백질을 암호화하는 핵산 분자는 SEQ IN NOS.: 47-51 또는 1, 6, 7, 10, 12, 14 또는 15 중 어느 하나에 명시된 핵산 분자를 포함한다.

[0190] 상기 구조체를 암호화하는 핵산은 인비트로젠에 주문하거나 또는 PCR 후에 pENTR™/D-TOPO® 벡터 (인비트로젠) 내로 직접적으로 TOPO-클론되어 자체적으로 (in-house) 제조되었고, Gateway® 기술 (인비트로젠)을 이용하여 레트로바이러스 벡터 pMP71-attR 내로 전달되었다. 특정 구현예에서, 본원의 IFP를 암호화하는 핵산 분자는 pMP71-attR 레트로바이러스 벡터 내로 클로닝되기 전에 코돈 최적화 (codon optimized)되었다.

[0191] 실시예 2

[0192] CD200R-CD28 구조체의 형질전환 발현

[0193] CD200R-CD28 키메릭 수용체가 T 세포 기능을 향상시킬 수 있는지 여부를 확인하기 위해 생쥐 C57BL/6 FBL(Friend virus-induced erythroleukemia)에 기반한 전파성 백혈병 (disseminated leukemia)의 전임상 생쥐

모델 및 TCR<sub>gag</sub> 형질전환 생쥐가 사용되었다.

[0194] gag 에피토프(TCR<sub>gag</sub>)에 특이적인 CD8<sup>+</sup> T 세포를 생산하기 위해 TCR 형질전환 생쥐가 생성되었다. C57BL/6 (B6) 생쥐는 Jackson Laboratory로부터 구입하였다. TCR<sub>gag</sub> 형질전환 생쥐는 CD8<sup>+</sup> T 세포 내에서 프렌드 바이러스 gag 에피토프에 특이적인 TCR 이식유전자를 발현한다 (Ohlen *et al.*, *J. Immunol.* 166: 2863-2870, 2001). 수행된 모든 동물 실험은 위성턴 대학 동물 실험 윤리위원회 프로토콜의 승인을 받았다 (프로토콜 # 2013-01). 생쥐 B6 프렌드 바이러스 유발 적백혈병 (FBL)은 F-MuLV 암호화된 gag 에피토프 (펩티드 CCLCLTVFL)를 발현한다.

[0195] 생쥐 유전자에 기반한 CD200R-CD28 키메릭 구조체가 pMP71 레트로바이러스 벡터 내로 삽입되었고, 항-CD3 및 항-CD28 항체에 의해 자극된 1차 생쥐 비장세포를 형질도입하기 위해 사용되었다. 구조체들은 실시예 1에 기술된 대로 설계되었으며, 인비트로젠에 주문되거나 또는 PCR에 의해 자체적으로 생산되었다. 이어서 구조체들은 pENTR<sup>TM</sup>/D-TOPO<sup>®</sup> 벡터 (인비트로젠) 내로 직접적으로 TOPO-클론되었고, Gateway<sup>®</sup> 기술 (인비트로젠)을 이용하여 레트로바이러스 pMP71-attR 내로 전달되었다. 레트로바이러스 패키징 세포주 Plat-E (Morita *et al.*, 2000, *Gene Therapy* 7:1063-1066, 2000; Cell Biolabs, Inc.)는 이펙틴 형질도입 시약(effectene transduction reagent, Qiagen)을 이용해 형질도입되었다. 바이러스 상등액은 2 일 또는 3 일째에 수집되었고 TCR<sub>gag</sub> T 세포 형질도입을 위해 사용되었다.

[0196] 형질감염 하루 전에, TCR<sub>gag</sub> T 세포는 항-CD3/CD28 및 100 U/mL rhIL-2에 의해 자극되었다. TCR<sub>gag</sub> T 세포의 형질도입은 12 월 플레이트 내에서 IL-2 및 폴리브렌의 존재 하에 100 g에서 90 분 동안 스픬감염에 의해 수행되었다. FBL 세포는 T 세포 형질도입과 유사하게 폴리브렌 스픬감염에 의해 CD200으로 형질도입되었으며, 이어서 동종 집단을 생성하기 위해 분류되었다.

[0197] 형질도입 5 일 후에, CD8<sup>+</sup> T 세포의 구조체 발현이 항-CD200R 항체 염색 및 유세포분석법에 의해 분석되었다 (도 1b). 녹색형광단백질 (GFP)을 암호화하는 벡터가 대조군으로 사용되었다. 4-36% 범위의 형질도입 효율 및 형질도입된 세포의 평균 형광 강도 (MFI)는 구조체 간에 유사하였다.

### 실시예 3

#### CD200R-CD28 구조체는 형질도입된 T 세포의 인 비트로 증식, 축적 및 이펙터 기능을 향상시킨다

[0200] 실시예 1 및 2에 기술된 CD200R-CD28 구조체의 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 증식, 축적 및 이펙터 기능 향상 효과가 평가되었다.

#### 인 비트로에서 이펙터 세포의 증식

[0202] TCR<sub>gag</sub> 이펙터 세포는 위에서 기술된 대로 인 비트로에서 생성되었다 (Stromnes *et al.*, *J. Clin. Invest.* 120: 3722-34, 2010). 방사능 조사된 항원 표시 비장세포 ( $5 \times 10^6$ ), 방사능 조사된 FBL ( $3 \times 10^6$ ), 그리고 TCR<sub>gag</sub> tg 세포 ( $10^6$ )가 10 mL의 배양 배지 (비필수 아미노산, 2  $\mu$ M 글루타민, 100 U/mL 페니실린/스트렙토마이신, 10% FBS 및 50  $\mu$ M 2-미캡토에탄올이 보충된 IMDM) 내에서 IL-2 (50 U/mL)와 함께 배양되었다. T 세포는 매 주 재자극되었으며, 마지막 자극 5-7 일 후 유세포분석으로 평가되었다.

#### 인 비트로 T 세포 증식 분석

[0204] TCR<sub>gag</sub> T 세포는 실시예 2와 같이 형질도입되었다. 인 비트로에서 T 세포의 증식을 평가하기 위해, TCR<sub>gag</sub> T 세포는 제조사의 프로토콜에 따라 CellTrace Violet (CTV, Life Technologies)으로 염색되었다. CTV-라벨된 Tg T 세포 ( $10^5$ ) 및 GFP 대조군 T 세포는 적정 수(titrating numbers)의 CD200<sup>-</sup> FBL 또는 CD200<sup>+</sup> FBL 세포에 의해 자극되었다. 3 일 후, TCR<sub>gag</sub> T 세포의 CTV 희석액이 유세포분석에 의해 평가되었다.

[0205] 적정 수의 CD200<sup>-</sup> FBL 세포 (위) 또는 CD200<sup>+</sup> FBL (아래)에 의해 자극된 후의 TCR<sub>gag</sub> T 세포의 수를 보여주는 유세포분석 결과는 도 2a에 나타나 있다. 시험된 다섯 CD200R-CD28 작제물 중 네 개가 GFP 대조군-형질도입된 T 세포 (붉은 선)에 비하여 CD200<sup>+</sup> FBL (푸른 선)에 반응하여 TCR<sub>gag</sub> T 세포에서 극적으로 향상된 증식을 나타내었

다.

[0206] **인 비트로 T 세포 축적 분석**

[0207] 향상된 증식이 또한 형질도입된 세포의 축적을 증가시키는지 결정하기 위해, 방사능 조사된  $CD200^+$  FBL에 의한 자극의 복수의 사이클에 걸쳐 총  $TCR_{gag}$  집단 내의 형질도입된 세포의 비율이 측정되었다.

[0208] 몇몇 구조체는  $CD200R-CD28tm$ ,  $CD200R-CD28Cys$ ,  $CD200R-3aas-CD28Cys$ , 및  $CD200R-9aas-CD28Cys$ 를 포함하는 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진하였다 (도 2b). 이들 구조체 중,  $CD200R-9aas-CD28Cys$ 는 복수의 자극에 걸쳐서 형질도입된 T 세포 내에서 가장 많은 증가를 나타내었으며, 3 회의 자극에 걸쳐 3 배 이상 증가하였다.

[0209] **인 비트로 T 세포 농축 분석**

[0210] 재자극이 형질도입된  $CD200R-9aas-CD28Cys$  IFP<sup>+</sup> T 세포의 집단을 농축하는지 여부를 확인하기 위해, 형질도입된 그리고 형질도입되지 않은  $CD8^+$  T 세포의 혼합된 집단이  $CD200^+$  또는  $CD200^-$  방사선 조사된 FBL 세포에 의해 재자극되었다. 방사선 조사된  $CD200^+$  종양 세포의 반복된 재자극은, 야생형 T 세포와 비교하여 IFP로 형질전환된 세포를 농축시켰으며, 이는  $CD200R-9aas-CD28Cys$  IRP의 리간드를 발현하는 표적의 인식이 반응을 향상시킨다는 것을 보여준다 (도 2c).

[0211] **인 비트로 공동편재(cocalocalization) 분석**

[0212] T 세포 활성화 동안 면역 시냅스(IS)에서 동족 리간드와 함께  $CD200R-9aas-CD28Cys$  IFP가 공동 편재되는지 여부를 확인하기 위해, 형질도입된 T 세포가 현미경을 이용해 이미지화되었다. CTxB를 사용하여 시냅스에서 농축된 세포막 내의 지질을 염색하였다 (도 2d, 패널 I). FBL 세포에서 발현되는  $CD200$  (도 2d, 패널 II) 또는 T 세포에서 발현되는  $CD200R$  (도 2d, 패널 III)을 표적으로 하는 표지된 항체가 IS와 관련된 분자들의 편재를 시각화하기 위해 사용되었다. IS 내에서의  $CD200$  리간드 및  $CD200R$  공동 편재 (도 2d, 패널 IV)는, 구조체가 면역 시냅스 내에 수용되기에 적합한 크기라는 것을 의미한다.

[0213] CFSE-기반 세포 독성 분석

[0214] 증가된 CD28 신호전달은 또한 이펙터 기능을 촉진한다 (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). 표적 종양 세포의 증가된 사멸에 대해  $CD200R-CD28$  융합 단백질-형질도입된 T 세포가 시험되었다. FBL 및 대조군 EL4 종양이 각각 PBS 내의  $2.5 \mu M$  ( $CFSE_{hi}$ ) 또는  $0.25 \mu M$  ( $CFSE^{lo}$ ) CFSE와 함께 실온에서 10 분 동안 인큐베이션되었다. 혈청-함유 배지에서 종양 세포들을 세척하여 과량의 염료를 제거하였다. EL4 및 FBL 종양 세포의 1:1 혼합물이 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서  $37^\circ C$  및 5%  $CO_2$ 에서 4 시간 동안 적정 수 (titrated numbers)의  $CD200R-CD28$  또는 GFP 백터 형질도입된  $TCR_{gag}$  인 비트로 확장된 이펙터 T 세포와 함께 인큐베이션되었다. 웰 내에 남아있는 총 CFSE 양성 세포 (FBL+EL4)의 %  $CFSE_{hi}$  (FBL)을 유세포 분석하여 특이적 FBL 용해가 결정되었다.

[0215]  $CD200R-CD28$  구조체에 의해 형질도입된  $TCR_{gag}$  T 세포는, 공백터에 의해 형질전환된  $TCR_{gag}$  T 세포와 비교하여 인 비트로에서 향상된 FBL 종양 용해능을 보여주었다 (도 2e 및 2g). EL4 세포 (CTV+),  $CD200^+$  FBL ( $CFSE^{hi}$ ) 및 비-특이적 EL4 ( $CFSE^{lo}$ ) 대조군 표적의 1:1:1 혼합물을 생성하기 위해 형광 염료 CellTrace Violet (CTV) 또는 CFSE의 상이한 희석물에 의해 표적 종양 세포들이 표지되었다 (도 2f). 또한, 대조군 GFP-형질도입된  $TCR_{gag}$  T 세포는 동일한 효율로  $CD200^-$  FBL 및  $CD200^+$  FBL를 용해하였다 (도 2g). 반면,  $CD200R-9aas-CD28Cys$ 가 형질도입된  $TCR_{gag}$  T 세포는 대조군 T 세포와 비교하여  $CD200^+$  FBL의 증가된 사멸을 나타내었으며, 시험된 가장 낮은 E:T 비율에서 40% 이상의  $CD200^+$  FBL을 용해시켰다 (도 2g).

[0216] 종합하면, 이들 데이터는  $CD200R-CD28$ 가 종양 세포 자극에 반응하여 형질도입된 R 세포의 축적 및 용균 활성을 증가시키는 기능을 제공한다는 것을 나타낸다.

[0217] **실시예 4**

[0218] CD200R-9aas-CD28Cys에 의해 형질도입된 T 세포는 인 비보에서 FBL의 인식에 반응하여 증가된 축적을 나타낸다

[0219] 종래 기술된 바와 같이,  $4 \times 10^6$ 의 살아있는 FBL 백혈병 세포가 B6 생쥐에 복강내로(i.p.) 주사되었다 (Stromnes et al., *J. Clin. Invest.* 120: 3722-34, 2010). FBL이 퍼지도록 5 일이 지난 후에, 생쥐는 이펙터 T 세포가 전달되기 적어도 6 시간 전에 180 mg/kg 사이클로포스파미드 (Cy, "Cytoxan")가 복강주사 되었다. 생존 연구를 위해, 인 비트로에서 이미 1-3 회 자극된  $10^5$  TCR<sub>gag</sub> T 세포가 종양 보유 생쥐 내로 전달되었다. 단기 증식 및 축적을 평가하기 위하여, 융합 단백질-형질도입 및 GFP-대조군-형질도입된 T 세포 각각  $2 \times 10^6$ 가 종양 보유 생쥐 내로 공동-주입되었고, 분석을 위해 8 일 후에 생쥐를 안락사시켰다. 생쥐는 종양 부하가 정기적으로 모니터링 되었으며, 24 내지 48 시간 이내에 종양의 진행에 의해 치사할 것이 예측되는 경우 안락사되었다.

[0220] CD200R-9aas-CD28Cys 융합 단백질-형질도입된 T 세포가 FBL의 인식에 반응하여 인 비보에서 더욱 증가된 증식 및 축적을 나타내는지를 평가하기 위하여, 융합 단백질-형질도입된 세포 및 대조군 세포의 혼합된 집단이 종양 보유 마우스 내로 전달되었으며, 전달 8 일 후에 생체 외 분석에 의한 세포의 비율이 비교되었다 (도 3a). 유사 유전자형(congenic) 마커의 사용에 의해, 형질도입된 T 세포는 주입된 비율과 관련하여 비장 및 림프절 모두에서 대조군 세포에 비해 1.2 내지 1.4 배 높은 비율로 탐지되었다 (도 3b). 형질도입된 CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> TCR<sub>gag</sub> T 세포는 종양 보유 마우스에 전달된 3 일 후에 감소된 CD62L 발현을 보였는데, 이는 이펙터 T 세포의 표현형을 제시하는 것이다 (도 3c). 15 일까지, 형질도입 및 대조군 T 세포는 고갈 마커(exhaustion markers)가 없는 것을 포함하여 유사한 표현형을 나타내었다 (도 3d). 인 비트로에서의 결과와 유사하게, CD200R-9aas-CD28Cys를 발현하는 T 세포는 인 비보에서 종양 자극에 반응하여 증가된 축적을 보였다. 게다가, 종양 보유 생쥐로 전달된 후 적어도 3 일 동안 이펙터 T 세포의 표현형과 일치하는 단백질 발현 패턴을 보였다.

[0221] 실시예 5

[0222] CD200R-CD28<sup>+</sup> T 세포에 의한 입양 면역치료(Adoptive Immunotherapy)는 전파성 백혈병의 치료에 더욱 높은 활성을 나타낸다

[0223] CD200R-CD28로 형질도입된 T 세포를 이용한 입양 면역치료는 전파성 백혈병의 전임상 생쥐 모델에서 증가된 치료 활성을 매개하였다.

[0224] 생쥐에게 치사량의 CD200<sup>+</sup> FBL 백혈병 세포가 주입되었고, 5 일 후 Cy-처리된 생쥐의 코호트(cohorts)는  $10^5$  T 세포에 의한 추가 치료를 받았다 (도 4a). CD200R-CD28 구조체에 의해 매개되는 효능에 대한 CD28 시스테인 결합의 기여가, 도 1a에 나타난 바와 같이 CD200R-CD28tm, CD200R-9aas-CD28Cys, 및 GFP 대조군 구조체에 의해 형질도입된 T 세포를 비교함으로써 평가되었다. T 세포의 활성을 촉진하기 위해, 생쥐 코호트에 추가적인 치료 제로서 IL-2가 10 일 동안 투여되었다 (Stromnes et al., *J. Clin. Invest.* 120: 3722-34, 2010). 투여 전에, T 세포는 유세포분석에 의해 다양한 표면 단백질이 평가되었다. 형질도입 및 대조군 TCR<sub>gag</sub> T 세포는 유사한 표현형을 나타내었는데, 이는 주입 전에는 형질도입이 세포의 표현형을 변화시키지 않았다는 것을 의미한다 (도 4b).

[0225] IL-2 주사를 받은 작은 코호트 생쥐에서는 T 세포가 생존율을 향상시켰으나 상이한 그룹의 T 세포를 주입받은 세포에서는 유의한 차이가 탐지되지 않았다 (도 4c). 그러나, IL-2 주사를 받지 않은 코호트 생쥐에서, 면역 시냅스 내에 적합한 적절한 크기의 CD200R-CD28 구조체에 의해 형질도입된 T 세포를 받은 생쥐의 생존률이 현저히 향상되었다 (도 4d). T 세포를 받지 않았거나, GFP 대조군 벡터에 의해 형질도입된 T 세포 또는 가장 큰 엑토도메인(ectodomain) (CD200R-CD28Cys IFP)에 의해 형질도입된 T 세포를 받은 생쥐의 대부분은 30 일 후에 생존하지 못했다 (도 4c 및 4d, 각각 검은 실선, 점선 및 주황색 선). 반면, CD200R-CD28tm<sup>+</sup> T 세포를 받은 생쥐의 71% 및 CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> T 세포를 받은 생쥐의 83%는 치료 후 100 일 이상 생존하였다 (도 4c 및 4d, 각각 녹색 및 붉은 선). 이러한 데이터는 면역 시냅스에서의 막 사이의 거리와 유사한 거리를 갖는 CD200R-CD28 구조체로 T 세포를 형질도입하는 것이 T 세포 면역 치료에서 외인성 IL-2의 투여에 대한 의존성을 극복하기에 충분한 공동자극을 제공한다는 것을 시사한다. 게다가, 외인성 IL-2 주사를 받지 않은 생쥐에서 시험된 CD200Rtm-CD28 및 CD200R-9aas-CD28Cys 구조체 간의 증식 및 축적의 차이가 있었으나, 두 IFP 모두 면역 치료를 효과적으로 향상시켜 다른 진행성 백혈병으로부터의 임상 결과를 유의하게 향상시켰다.

## [0226] 실시예 6

[0227] CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> T 세포는 내재 조직과 자가반응(Autoreactivity)을 유발하지 않으며 인 비보에서 정상 조직의 침윤을 나타내지 않는다

[0228] TCR<sub>gag</sub> T 세포의 형질 도입이 내재 조직과의 자가 반응을 일으키기에 충분할 정도로 활성화 임계값을 낮추는지를 결정하기 위해, 일부민 프로모터의 조절 하에 간세포에서 자가-항원으로서 FBL gag 종양 Ag을 발현하도록 조작된 형질전환 생쥐에서 자가면역 독성이 평가되었다 (도 5a). TCR<sub>gag</sub> 이펙터가 인 비트로에서 생성되었으며, 10<sup>6</sup> 이 전파성 백혈병과 함께 Cytoxan-처리된 Alb:Gag 생쥐 내로 전달되었다. 전달 3 일 및 7 일 후에, 간 효소인 아스파르트산 아미노전이효소(ALT) 및 알라닌 아미노전이효소(ALT)의 혈청내 수준을 정량화함으로써 간 손상이 평가되었다. 쥐에서 대조군 또는 CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> TCR<sub>gag</sub> 세포를 이용한 입양 치료는 전달 3 일 및 7 일 후에 AST 또는 ALT의 혈청 수준에 영향을 미치지 않았으며, 이는 CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> Alb:Gag 생쥐에서 탐지 가능한 자가면역 간 손상을 유발하지 않음을 나타낸다 (도 5b).

[0229] IFP로 형질도입된 T 세포는 대조군 T 세포와 비교하여 정상 조직의 증가된 침윤을 나타내지 않았다. 세포는 전달 7 일 후에 안락사되었고, T 세포 침윤을 정량하기 위하여 T 세포 마커인 CD3에 대한 항체로 간 절편을 염색하였다. 간 조직 내의 T 세포의 제한적인 존재가 관찰되었고, CD200R-9aas-CD28Cys<sup>+</sup> 또는 대조군 TCR<sub>gag</sub>의 수여군 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 이는 IFP 발현의 결과로 램프구 세포 침윤이 증가하지 않았다는 것을 의미한다 (도 5c).

## [0230] 실시예 7

[0231] 4-1BB 공동-자극 신호전달 도메인은 인 비트로에서 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진한다

[0232] 공동-자극 수용체 4-1BB는 활성화된 T 세포에서 상향 조절되며, T 세포 생존 및 사이토카인 생산을 촉진한다 (Chen and Flies, *Nat. Rev. Immunol.* 13: 227-242, 2013). CD28의 세포내 신호전달 도메인이 존재 또는 부재하는, 4-1BB의 세포내 신호전달 도메인이 T 세포의 증식 및 축적 증가를 유도할 수 있는지 평가하기 위해, 실시예 2에 기술된 방법을 사용하여 4-1BB를 사용한 IFP (CD200R-9aas-4-1BB) 또는 CD28과 결합된 4-1BB를 사용한 IFP (CD200R-9aas-CD28-4-1BB)가 생성되었다 (도 6a). TCR<sub>gag</sub> T 세포는 실시예 2와 같이 형질도입되었으며, TCR<sub>gag</sub> 이펙터 세포는 실시예 3과 같이 인 비트로에서 생성되었다.

[0233] CD200R-9aas-CD28Cys에서 관찰된 바와 같이, 4-1BB 구조체로 형질도입된 T 세포는 인 비트로에서 복수 회의 자극을 통해 축적되었다 (도 6b). 이러한 데이터는 4-1BB IFP 역시 T 세포의 증식 및 생존을 촉진한다는 것을 나타낸다.

[0234] CD200R-4-1BB로 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포는 실시예 3에 기술된 CFSE-기반 세포독성 시험에서 인 비트로에서 향상된 FBL 종양 용해능을 보였다 (도 6c). CD200R-41BB-형질도입된 T 세포는 생존 또한 촉진되었다 (도 6d).

## [0235] 실시예 8

[0236] CD200Rtm-CD28의 공동-발현은 WT1-특이적 TCR 1차 T 세포의 기능을 향상시킨다

[0237] IFP 발현이 인간 1차 T 세포의 T 세포 기능을 향상시키는지 여부를 결정하기 위해, 인간 CD200Rtm-CD28 구조체 (SEQ ID NO.:1)가 생성되었다. 구조체는 유전자들을 P2A 요소로 연결함으로써 HLA-A2-제한된 WT1<sub>126</sub>-특이적 TCR "C4"의 베타 및 알파 사슬과 결합되었다 (도 7a). 첫 번째 P2A 서열은 두 번째 P2A 서열과의 유전자 재조합을 방지하기 위해 코돈 최적화되었다. 렌티바이러스를 제조하기 위해, Effectene (Qiagen)을 이용하여 293 T/17 세포 (3x10<sup>6</sup> 세포/플레이트)가 pRRRLSIN 내의 인간 구조체와 패키징 벡터 pMDLg/pRRE, pMD2-G, 및 pRSV-REV로 형질도입되었다. 배양 배지는 형질감염 1 일 후에 교환되었으며, 2 일차 및 3 일차에 바이러스를 함유하는 상등액이 수집되었고, 알리코트(aliquot)들은 추후 사용을 위해 동결되었다.

[0238] 내인성 TCR이 없는 Jurkat 인간 T 세포 서브라인이 IFP 및 TCR의 시험 발현에 사용되었다. 이들 Jurkat T 세포 2x10<sup>6</sup> 개가 레트로바이러스 상등액 2 ml을 이용하여 32°C에서 90 분 동안 1000 g에서 스피ن감염에 의해 형질도입되었다. 3-유전자 구조체에 의한 Jurkat 인간 T 세포주의 형질도입으로 IFP가 고발현되었으며 TCR만으로 형질도

입된 T 세포와 유사한 MFI에서의 TCR 발현을 보였다 (도 7a).

[0239] 1차 인간 T 세포를 형질도입하기 위하여, HLA-A2+ 도너(donor)로부터 밀초혈 단핵구(PBMC)가 수집되었다. Miltenyi 자기 구슬(magnetic bead)을 이용해 CD8<sup>+</sup> T 세포가 정제되었으며, 인간 T 세포 Expander CD3/CD28 Dynabeads (Life Technologies) 및 50 IU/ml IL-2에 의해 자극되었다. 자극 4 시간 후, T 세포는 Jurkat T 세포와 관련하여 위에서 기술된 대로 형질도입되었다. T 세포는 매 10 내지 14 일마다 종래 기술된 REP(rapid expansion protocol)에 의해 재자극되었다 (Ho et al., *J Immunol Methods* 310:40-52, 2006).

[0240] 낮은 수준의 MHC I 발현은 외인성 로드된 펩티드의 표시를 허용하는 반면, 인간 세포주 T2는 TAP이 결여되어 내인성 펩티드를 표시할 수 없이 때문에 APC로서 사용되었다. T2 세포에 의한 CD200의 발현이 유세포분석에 의해 평가되었다 (도 7b). T2 세포는 낮은 수준의 내인성 CD200 발현을 나타내었다 (도 7b).

[0241] 형질도입된 T 세포를 WT1<sub>126</sub>-필스 T2 세포로 자극하였다. 표적 세포에서 CD200 발현 수준이 낮았음에도 불구하고, CD200Rtm-CD28-형질도입된 T 세포는 C4 TCR 단독으로 형질도입된 T 세포와 비교하여 향상된 증식을 나타내었다 (도 7c). 또한, 자극된 CD200Rtm-CD28-형질도입된 T 세포 (즉, IFP<sup>+</sup> T 세포)는 CD200dim 종양 세포에 노출시 대조군 T 세포와 비교하여 IFN $\gamma$  및 IL-2의 증가된 수준을 생산하였다 (도 7d).

[0242] 전반적으로, 이들 결과는 인간 CD200Rtm-CD28 구조체 및 WT1<sub>126</sub>-특이적 TCR의 베타 및 알파 사슬을 발현하도록 형질도입된 1차 T 세포는 TCR 구조체 단독으로 형질도입된 T 세포와 비교하여 향상된 증식 및 증가된 사이토카인 생산을 나타냄을 보여준다.

#### 실시예 9

##### SIRP $\alpha$ -CD28 융합 단백질 구조체는 인 비트로에서 형질도입된 T 세포의 측적을 촉진한다

[0245] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은, SIRP $\alpha$ 의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어진 IFP를 또한 포함한다 (도 8a). 소수성 요소는 SIRP $\alpha$  또는 CD28의 막통과 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 SIRP $\alpha$ -CD28 융합 단백질에서, 소수성 요소는 CD28 막통과 도메인을 포함하고, 세포외 요소가 CD28의 세포외 부분, 특히 소수성 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, SIRP $\alpha$ -CD28Cys, SIRP $\alpha$ -6aas-CD28Cys, SIRP $\alpha$ -9aas-CD28Cys, 및 SIRP $\alpha$ -9aas-CD28Cys)를 더 포함한다.

[0246] 세포외 요소는 SIRP $\alpha$ 의 세포외 도메인 전체 또는 부분을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 세포외 요소는 SIRP $\alpha$ 의 세포외 도메인 전체를 포함한다. 다른 예시에서, 세포외 요소는 SIRP $\alpha$ 의 N-말단으로부터 최초 367 아미노산 (예를 들어, SIRP $\alpha$ -6aas-CD28Cys), 최초 364 아미노산 (예를 들어, SIRP $\alpha$ -9aas-CD28Cys), 또는 최초 350 아미노산 (SIRP $\alpha$ -23aas-CD28Cys)을 포함한다. 세포외 요소의 크기는 융합 단백질이 면역 시냅스 내로 들어가고 cSMAC 내에서 TCR과 공동-편재되어 강한 공동자극 신호를 전달하는 능력에 영향을 미칠 수 있다. 일부 예시에서, 세포외 요소는 절단된 SIRP $\alpha$ 를 포함하며, 이는 세포외 요소의 크기를 변경할 수 있다.

[0247] 예를 들어, 융합 단백질의 세포외 도메인의 추가적인 세포외 아미노산 (예를 들어, 추가적인 9 내지 12 개 아미노산)을 설명하기 위해, SIRP $\alpha$ -6aas-CD28는 천연 N-연결된 글리코실레이션 부위를 보존하는 SIRP $\alpha$ 의 절단된 부분을 가진다. 다른 예에서, SIRP $\alpha$ -23aas-CD28은 SIRP $\alpha$  세포외 도메인의 전체 줄기 영역이 결여된 SIRP $\alpha$ 의 절단된 부분을 가진다. 추가적으로, SIRP $\alpha$ -CD28 구조체는 SIRP $\alpha$ 가 그의 표적에 결합하는 것에 의해 개시된 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 (예를 들어, 공동자극성) 신호로 전환하는 능력을 가진다.

[0248] 실시예 2에 기술된 방법을 이용하여 SIRP $\alpha$  세포외 요소를 이용한 IFP를 제조하였다 (도 8a). TCR<sub>gag</sub> T 세포는 실시예 2와 같이 형질도입되었고, TCR<sub>gag</sub> 이펙터 세포는 실시예 3과 같이 인 비트로에서 제조되었다. FBL 세포는 T 세포 형질도입과 유사하게 폴리브렌 스피닝염으로 CD47 또는 mCherry에 의해 형질도입되었으며, 이어서 동종집단을 생성하기 위해 분류되었다.

[0249] CD200R-9aas-CD28Cys에서 관찰된 바와 같이, SIRP $\alpha$  구조체에 의해 형질도입된 T 세포는 인 비트로에서의 복수 회의 자극에 의해 측적되었다 (도 8b). 이러한 데이터는 SIRP $\alpha$ -CD28 IFP가 또한 T 세포의 증식과 생존을 촉진한다는 것을 시사한다.

[0250] 인 비트로에서 T 세포의 증식을 평가하기 위해, CTV 회색 증식 분석이 실시예 2에 기술된 대로 수행되었다. CD200R-9aas-CD28Cys에서 관찰된 바와 같이, T 세포-종양 세포 시냅스 거리를 유지하도록 조작된 SIRP $\alpha$  구조체

에 의해 형질도입된 T 세포는 대조군 T 세포와 비교하여 향상된 증식을 나타내었다 (도 8c). 또한, CD47<sup>+</sup> 종양 세포는 SIRP α-CD28<sup>+</sup> T 세포와의 공동 배양 3 일 후에 효과적으로 사멸되었으나, 대조군 T 세포 또는 세포내 신호전달 도메인이 결여된 SIRP α 구조체에 의해 형질도입된 T 세포의 경우에는 그렇지 않았다 (도 8d). SIRP α-CD28<sup>+</sup> T 세포의 용균 활성을 추가적으로 평가하기 위해, CD47<sup>+</sup> FBL 사멸을 정량화하기 위해 IncuCyte 분석이 사용되었다. 총 10<sup>5</sup> mCherry<sup>+</sup> CD47<sup>+</sup> FBL이 24-웰 플레이트 내에서 SIRP α-CD28 구조체에 의해 형질도입된 인간 T 세포의 적정(titration)과 공동 배양되었다. 플레이트는 세포 배양 인큐베이터 내의 IncuCyte (Essen BioScience)에서 70 시간 동안 인큐베이션되었다. 적색 신호의 소실에 의해 결정되는 종양 세포의 사멸을 모니터링하기 위해 매 시간 이미지가 촬영되었다. SIRP α-CD28<sup>+</sup> T 세포는, 시험된 가장 낮은 이펙터-대-표적 비율에서도 CD47<sup>+</sup> 종양 세포를 사멸시켰다 (0.4:1; 도 8e).

#### [0251] 실시예 10

#### [0252] PD-1-CD28 융합 단백질 구조체는 인 비트로에서 형질도입된 T 세포에서 사이토카인 생산을 촉진하였다

[0253] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은 또한, PD-1의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어지는 IFP를 포함한다 (도 9a). 막통과 요소는 PD-1 또는 CD28의 막통과 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 PD1-CD28 융합 단백질에서, 막통과 요소는 CD28의 막통과 도메인으로 이루어지고 세포외 요소는 사슬간 이량체화를 촉진하기 위해 CD28의 세포외 부분, 특히 막통과 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, PD1-CD28Cys, PD1-9aas-CD28Cys, 및 PD1-21aas-CD28Cys)를 더 포함한다.

[0254] 세포외 요소는 PD-1의 세포외 도메인 전체 또는 부분을 포함할 수 있고, 또는 세포 간의 짧은 공간 거리를 유지하여 면역 시냅스에 대한 리간드 수용체의 접근을 용이하게 하기 위해 절단될 수 있다 (예를 들어, 생쥐 구조체에서 -9aas, 인간 구조체에서 -12aas 또는 -15aas; PD-1의 줄기 영역의 결실, -21aas). 또한, PD1-CD28 구조체는 PD1의 표적에 대한 결합으로부터의 전형적으로 억제 신호일 수 있는 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 (예를 들어, 공동자극) 신호로 전환할 수 있는 능력을 가진다.

[0255] 실시예 2에 기술된 방법을 사용하여 PD-1 세포외 요소를 포함하는 IFP가 제조되었다 (도 9a). 실시예 2와 같이 TCR<sub>gag</sub> T 세포가 형질도입되었고, 실시예 3과 같이 TCR<sub>gag</sub> 이펙터 세포가 인 비트로에서 제조되었다.

[0256] 생쥐 PD1-CD28 IFP가 구조체 I-IV 및 VII을 이용하여 제조되었다 (도 9a). PD1-CD28<sup>+</sup> T 세포가 브레펠린 A(Brefeldin A)의 존재 하에서 PD-1 리간드, PD-L1 및 PD-L2를 내재적으로 발현하는 FBL 세포에 의해 재자극되었다. 5 시간 후, 세포는 고정되었고 이펙터 사이토카인, IFN γ 및 TNF α의 세포내 염색을 위해 BD Cytofix/Cytoperm 키트로 처리되었다. 다섯 종류의 PD1-CD28 구조체 각각에 의한 형질도입은 대조군 T 세포와 비교하여 세포내 사이토카인의 생산을 향상시켰다 (도 9b).

[0257] 구조체 I-III 및 V-VII을 이용하여 인간 PD1-CD28 IFP가 제조되었다 (도 9a). PD1-CD28 IFP 및 C4 TCR을 함유하는 벡터가 상술된 바와 같이 제조되었다. Jurkat T 세포가 상술된 바와 같이 형질도입되었다. TCR 및 PD1-12aas-CD28Cys 또는 PD1-15aas-CD28Cys에 의해 형질도입된 T 세포는 높은 형질도입 효율 및 두 단백질 모두의 발현을 보였다 (도 10).

#### [0258] 실시예 11

#### [0259] Fas-CD28 융합 단백질 구조체는 인 비트로에서 형질도입된 T 세포의 축적 및 향상된 기능을 촉진한다

[0260] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은 또한, Fas의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어지는 IFP를 포함한다 (도 11a). 막통과 요소는 Fas 또는 CD28의 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 Fas-CD28 융합 단백질에서, 막통과 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 세포외 요소는 CD28의 세포외 부분, 특히 막통과 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, Fas-CD28Cys 및 Fas-9aas-CD28Cys)를 더 포함한다. 세포외 성분은 Fas의 세포외 도메인 전체 또는 부분을 포함할 수 있거나, 수용체-리간드 상호작용시 세포 간의 짧은 공간 거리 (-9aas)를 유지하기 위해 절단될 수 있다. 또한, Fas-CD28 구조체는 Fas의 표적에 대한 결합에 의해 개시되는 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 (예를 들어, 공동 자극) 신호로 전환하는 능력을 가진다.

[0261] 실시예 2에 기술된 방법을 사용하여 Fas 세포외 요소를 포함하는 IFP가 제조되었다 (도 11a). 실시예 2와 같이 TCR<sub>gag</sub> T 세포가 형질도입되었고, 실시예 3과 같이 TCR<sub>gag</sub> 이펙터 세포가 인 비트로에서 제조되었다.

[0262] Fas-CD28 IFP의 발현이 형질도입된 세포의 축적을 증가시키는지를 결정하기 위해, 실시예 3에 기술된 바와 같이 방사선 조사된 FBL에 의한 복수의 사이클의 자극에 걸쳐 총 TCR<sub>gag</sub> 집단 내의 혼합된 집단으로부터의 형질도입된 세포의 비율이 측정되었다. 모든 구조체가 대조군 T 세포와 비교하여 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진하였다 (도 11b). 또한, 전장(FL) Fas가 아닌 Fas-CD28 구조체의 발현은 인 비트로에서 복수의 자극에 의해 T 세포의 생존 또는 증식을 촉진하였다 (도 11c).

[0263] 실시예 12

[0264] **LAG3-CD28 융합 단백질 구조체**

[0265] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은 또한 LAG3의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어지는 IFP를 포함한다 (도 12a). 막통과 요소는 LAG3 또는 CD28의 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 LAG3-CD28 융합 단백질에서, 막통과 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 세포외 요소는 CD28의 세포외 부분, 특히 막통과 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, LAG3-CD28Cys 및 LAG3-9aas-CD28Cys)를 더 포함한다.

[0266] 세포외 성분은 LAG3의 세포외 도메인 전체 또는 부분을 포함할 수 있거나, 수용체-리간드 상호작용시 세포 간의 짧은 공간 거리 (예를 들어, -9aas)를 유지하기 위해 절단될 수 있다. 또한, LAG3-CD28 구조체는 LAG3의 그의 표적에 대한 결합으로부터의 전형적으로 억제 신호일 수 있는 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 (예를 들어, 공동 자극) 신호로 전환하는 능력을 가진다.

[0267] 실시예 2에 기술된 방법을 이용하여 LAG3 세포외 성분을 사용한 IFP를 제조하였다 (도 12a). T 세포가 LAG3-eGFP 구조체에 의해 형질도입되었다. 형질도입 5 일 후, CD8<sup>+</sup> T 세포의 항-LAG3 항체 염색 및 유세포분석에 의해 구조체의 발현을 분석하였다 (도 12b). 녹색 형광 단백질(GFP)만을 암호화하는 벡터가 대조군으로 사용되었다. 모든 구조체가 LAG3의 발현을 나타내었다 (도 12b).

[0268] 실시예 13

[0269] **TIM3-CD28 융합 단백질 구조체**

[0270] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은 또한 TIM3의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어지는 IFP를 포함한다 (도 13a). 막통과 요소는 TIM3 또는 CD28의 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 TIM3-CD28 융합 단백질에서, 막통과 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 세포외 요소는 CD28의 세포외 부분, 특히 막통과 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, TIM3-CD28Cys 및 TIM3-9aas-CD28Cys)를 더 포함한다. 세포외 성분은 TIM3의 세포외 도메인 전체 또는 부분을 포함할 수 있거나, 세포 간의 짧은 공간 거리 (예를 들어, -9aas)를 유지하기 위해 절단될 수 있다. 또한, TIM3-CD28 구조체는 TIM3의 그의 표적에 대한 결합으로부터의 전형적으로 억제 신호일 수 있는 신호를 CD28 세포내 신호전달 도메인에 의해 생성되는 양성 신호로 전환하는 능력을 가진다.

[0271] 실시예 2에 기술된 방법을 이용하여 TIM3 세포외 요소를 사용하는 신규한 IFP가 제조되었다 (도 13a). 상술한 바와 같이 T 세포가 GFP-TIM3 구조체에 의해 형질도입되었다. 형질도입 5 일 후에, CD8<sup>+</sup> T 세포의 항-TIM3 항체 염색 및 유세포분석에 의해 구조체의 발현을 분석하였다 (도 13b). 녹색 형광 단백질(GFP)만을 암호화하는 벡터가 대조군으로 사용되었다. 모든 구조체가 TIM3의 발현을 나타내었다 (도 13b).

[0272] 본원발명의 특정 구현예들이 예시되거나 설명되었으나, 전술한 다양한 구현예들이 조합되어 더 많은 구현예들을 제공할 수 있으며, 본원발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 다양한 변경이 이루어질 수 있음을 쉽게 알 수 있을 것이다.

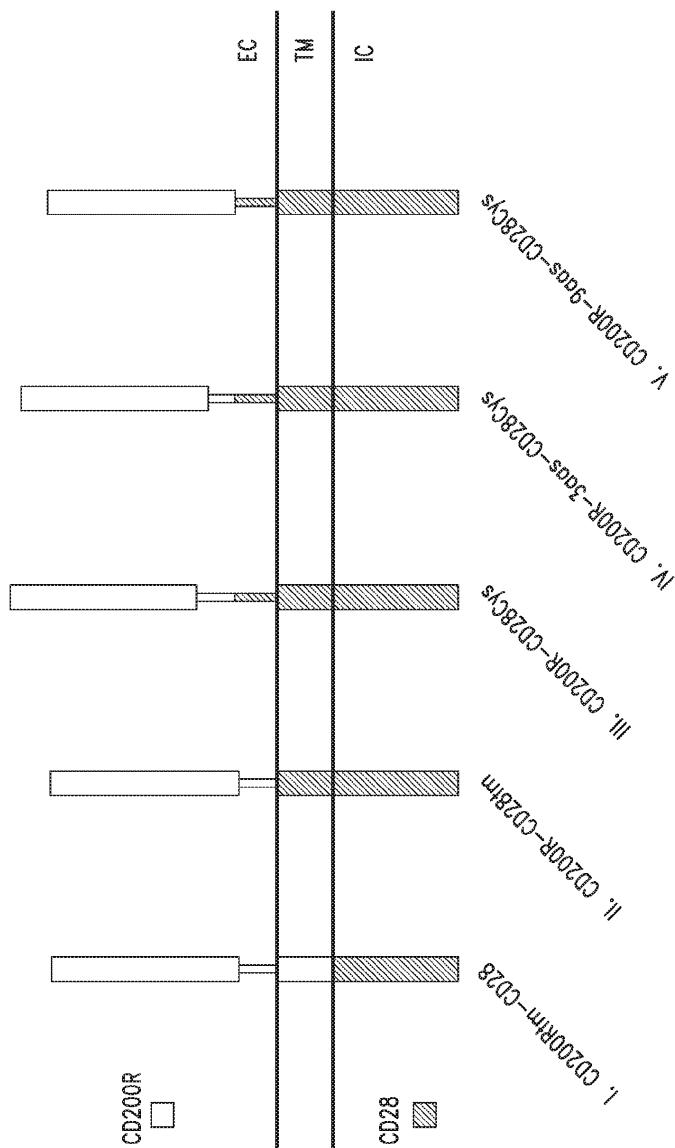
[0273] 본 명세서에서 인용되거나 출원 데이터 시트에 나열된, 미국 특히 가출원 제62/128,979 호를 포함하나 이에 제한되지 않는 미국 특히, 미국 특히 출원 공보, 미국 특히, 외국 특히, 외국 특히 출원 및 비특허 문헌들은 그 전체가 여기에 참조로서 포함된다. 추가적인 구현예를 제공하기 위해 다양한 특히, 출원 및 간행물들의 개념을 채용할 필요가 있는 경우에 구현예의 측면들이 수정될 수 있다.

[0274] 전술한 상세한 설명에 비추어 구현예에 대한 이러한 또는 다른 변경이 이루어질 수 있다. 일반적으로, 아래의

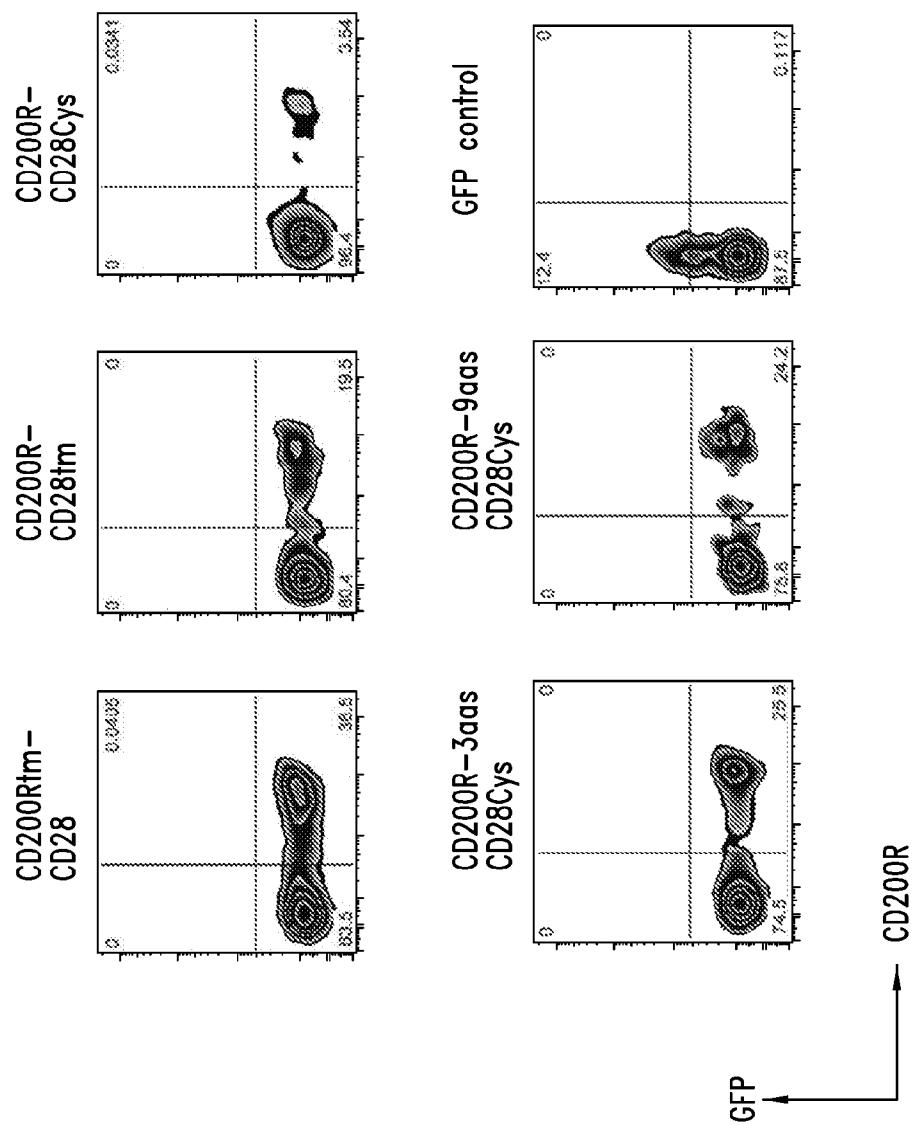
청구범위에서, 사용된 용어는 명세서 및 청구범위를 개시된 특정 구현예로 제한하는 것으로 해석되어서는 안되며, 그러한 청구범위의 가능한 모든 실시예 및 그의 균등물의 전체 범위를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 따라서, 청구범위는 그 개시에 의해 제한되지 않는다.

## 도면

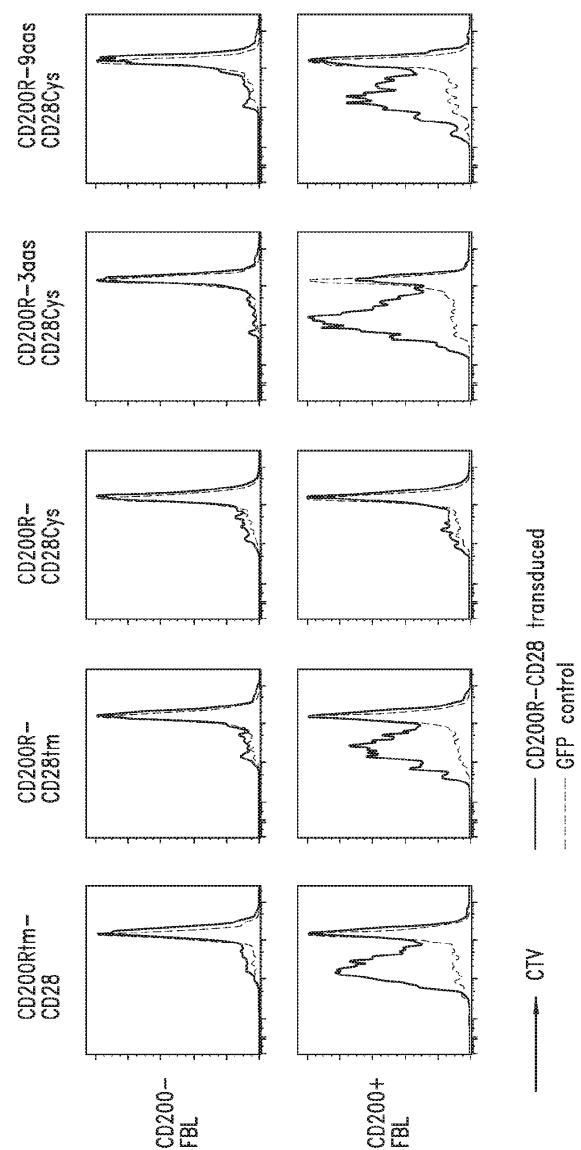
### 도면 1a



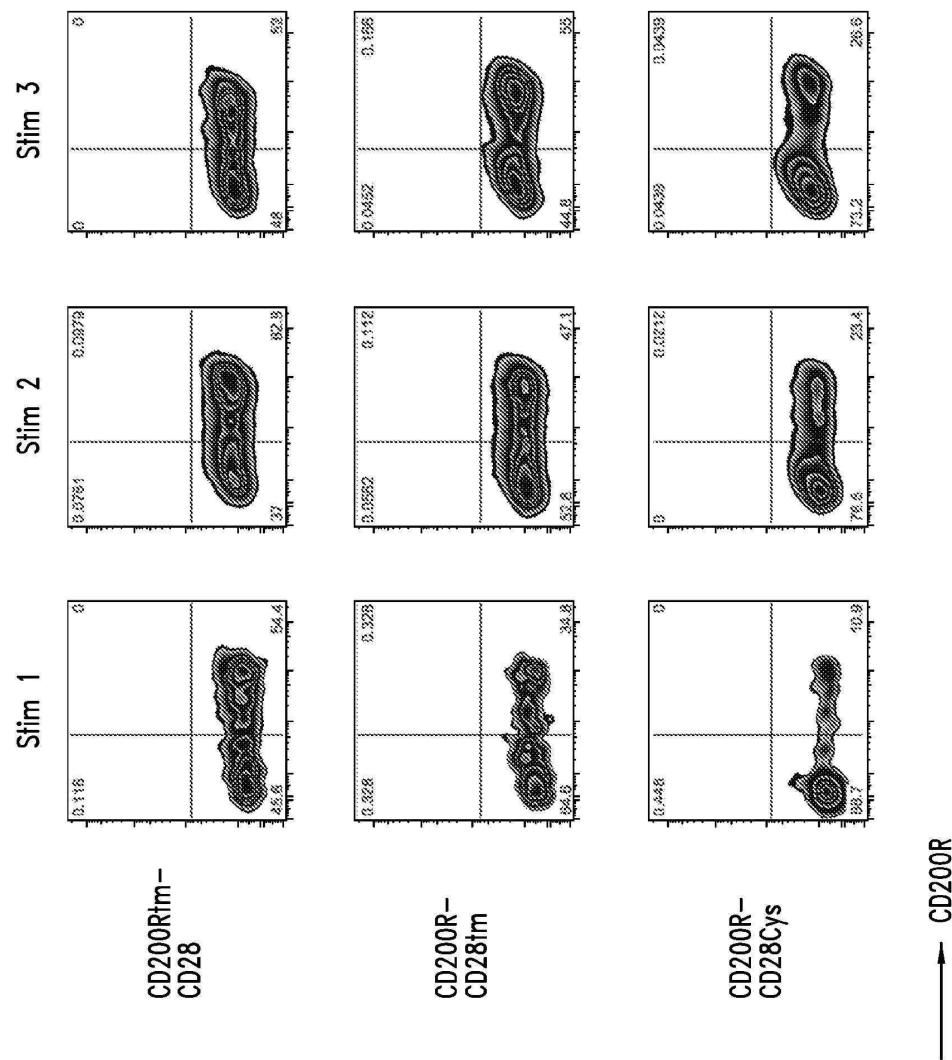
도면1b



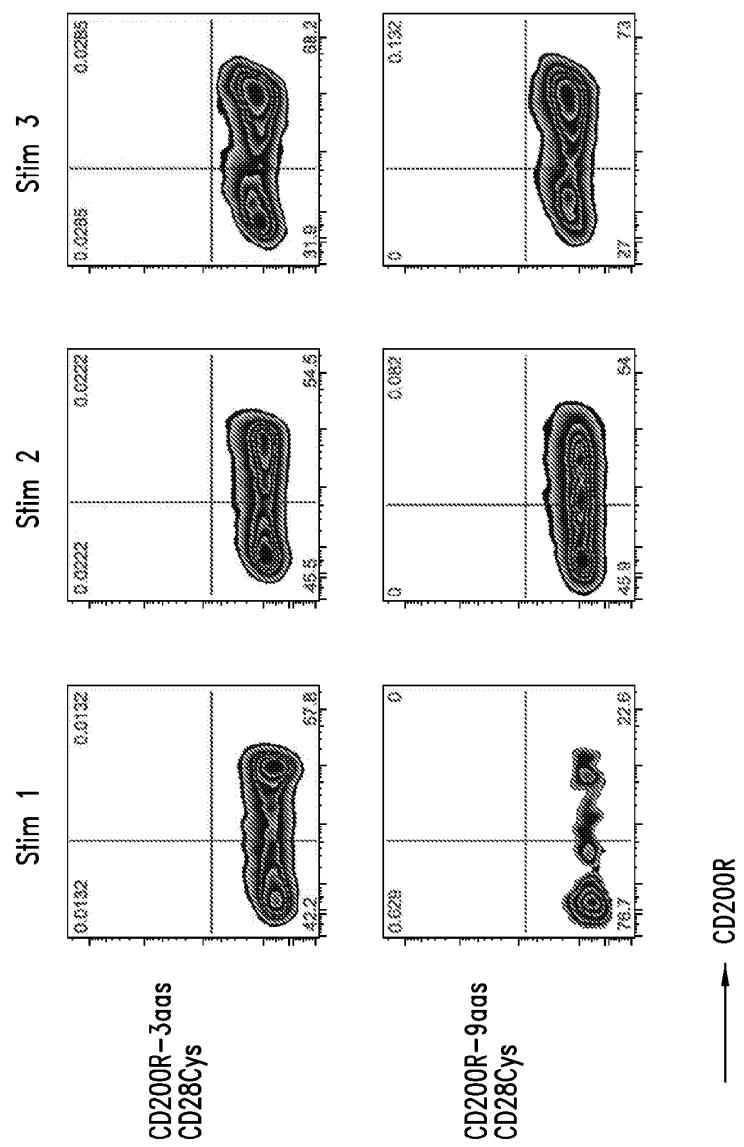
도면2a



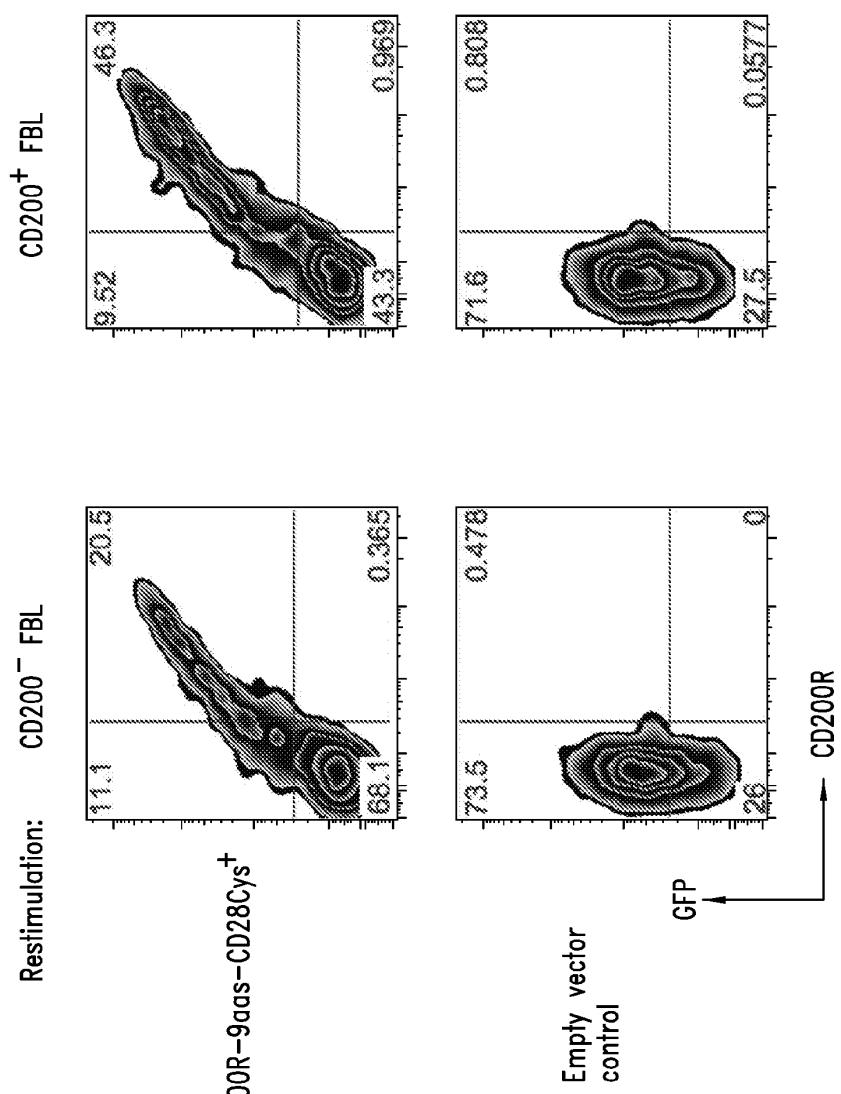
도면2ba



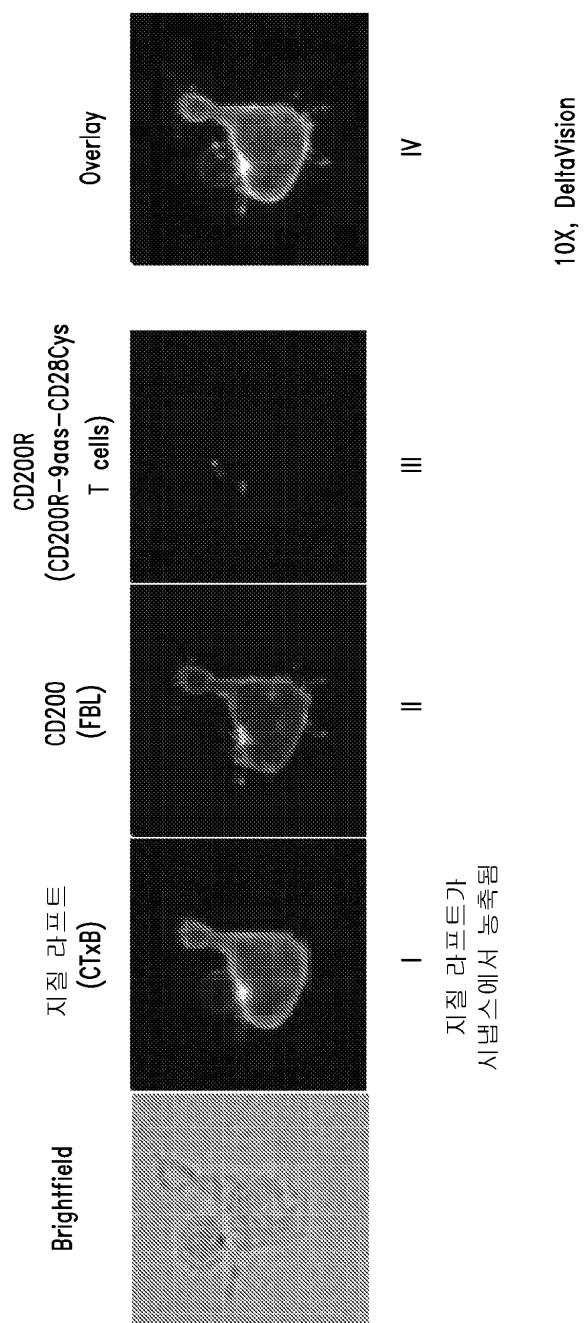
도면2bb



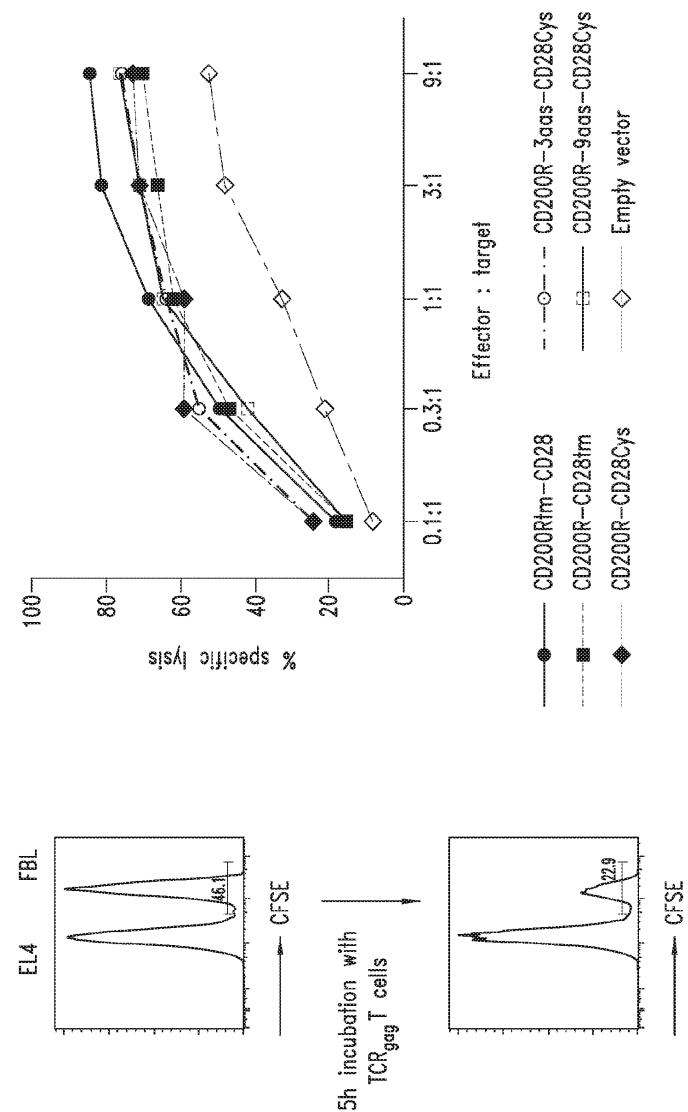
도면2c



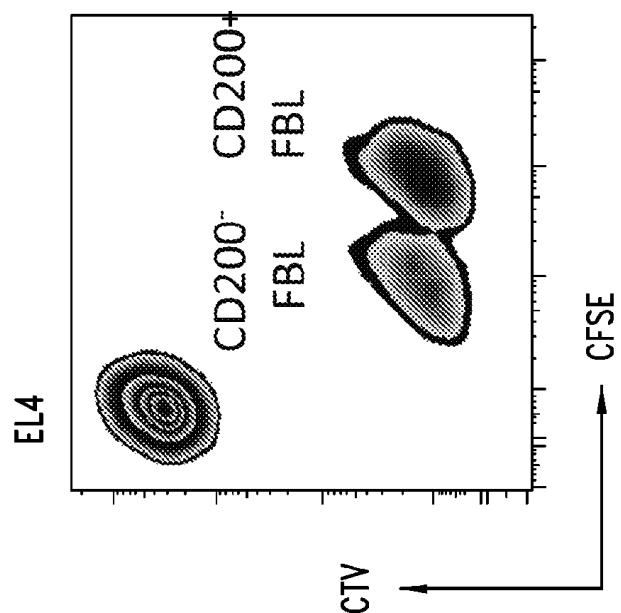
도면2d



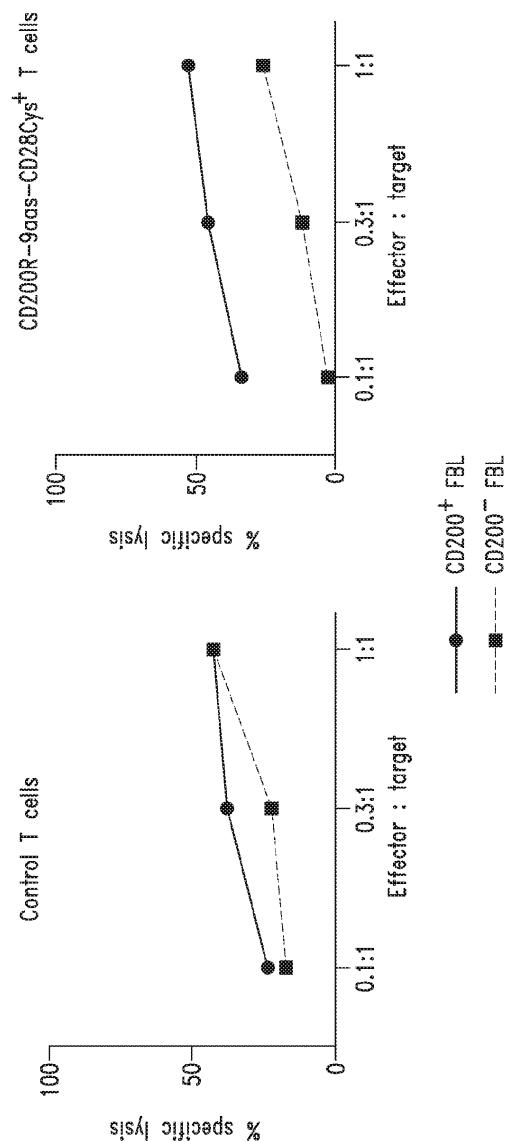
## 도면2e



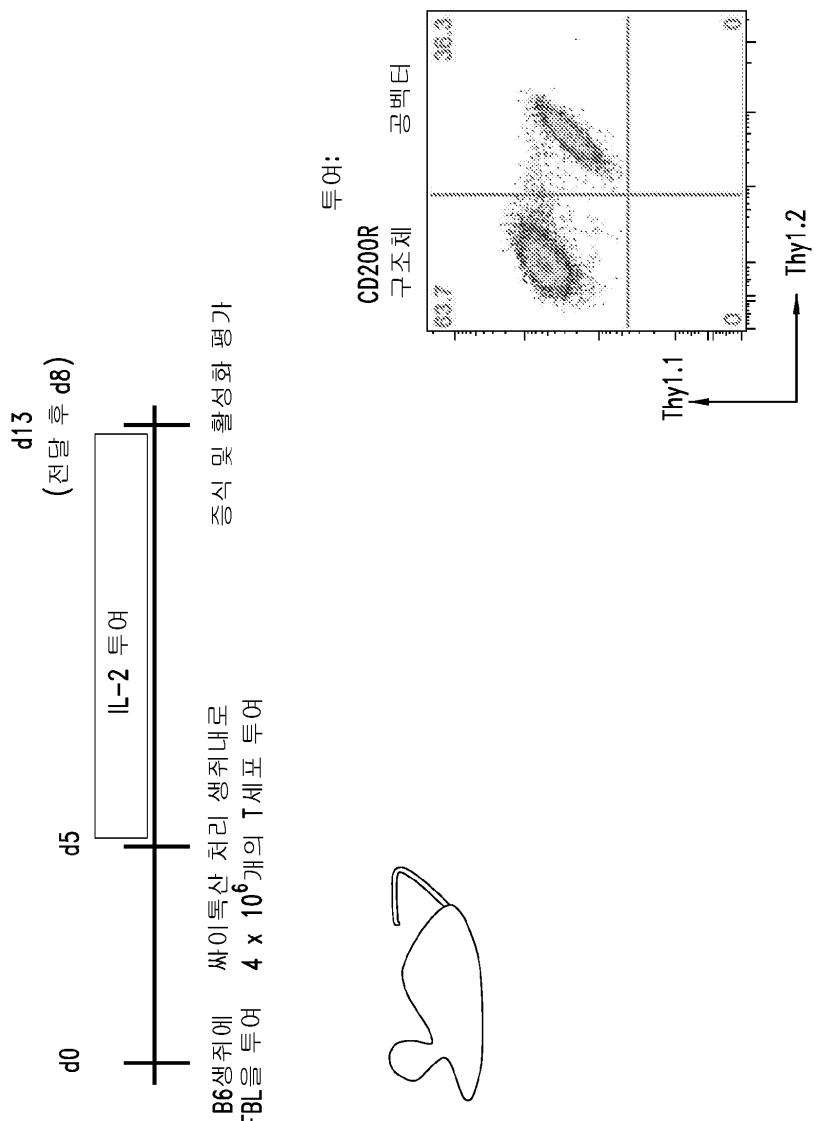
도면2f



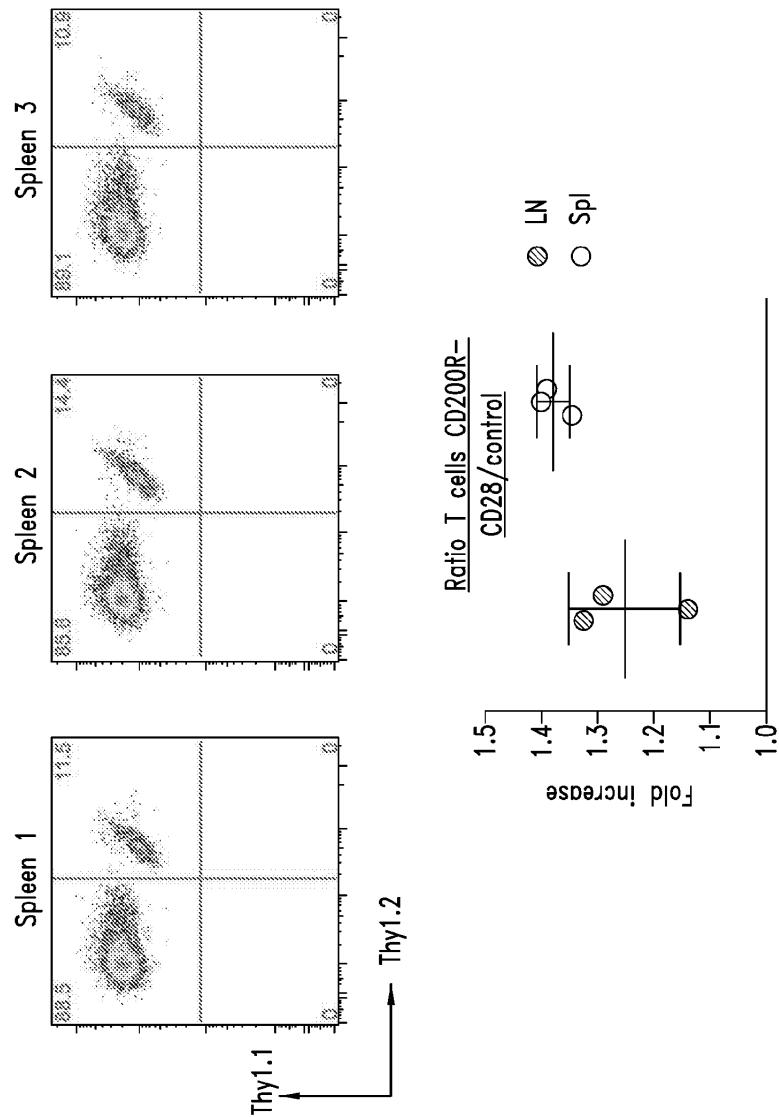
## 도면2g



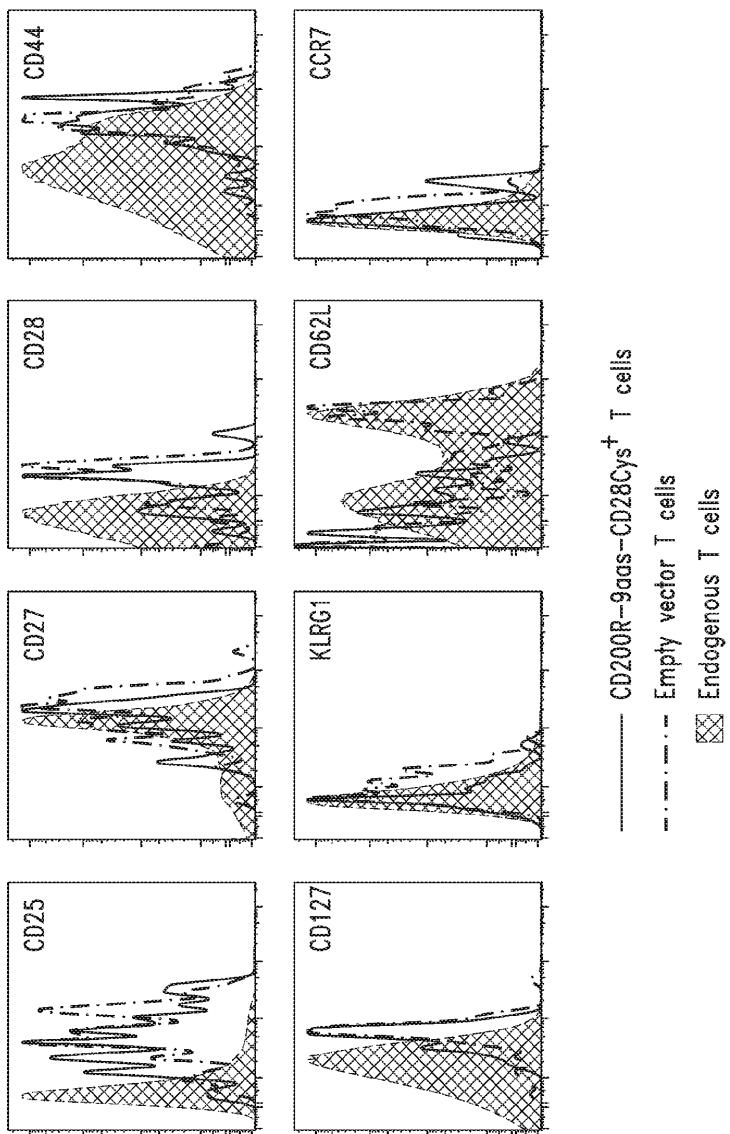
### 도면3a



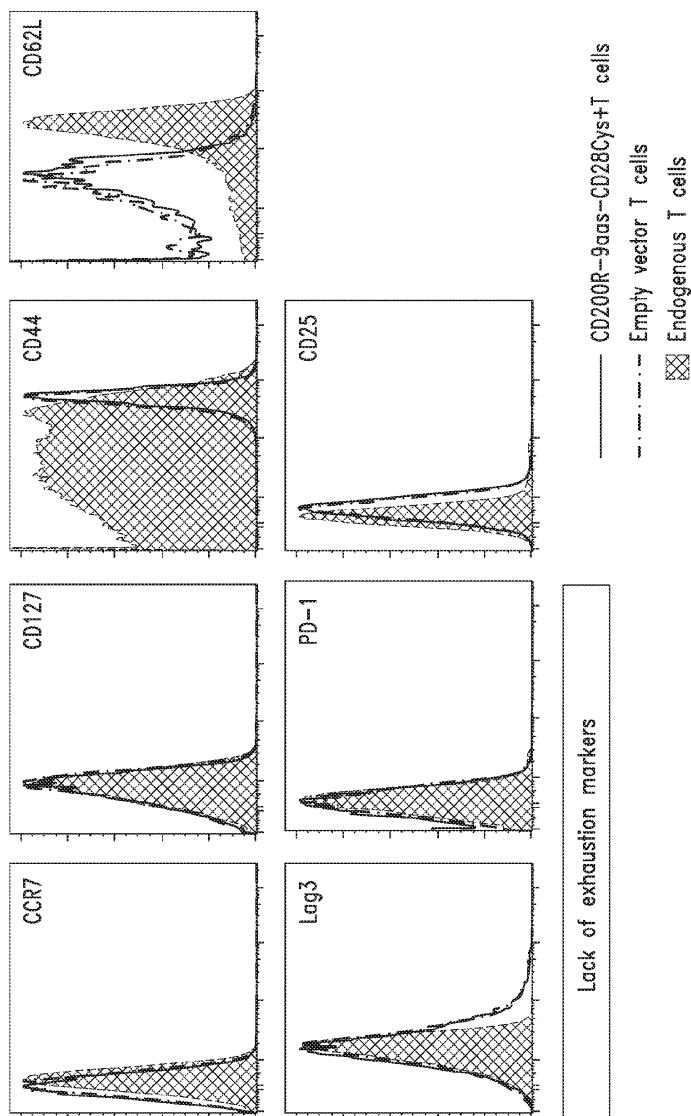
도면3b



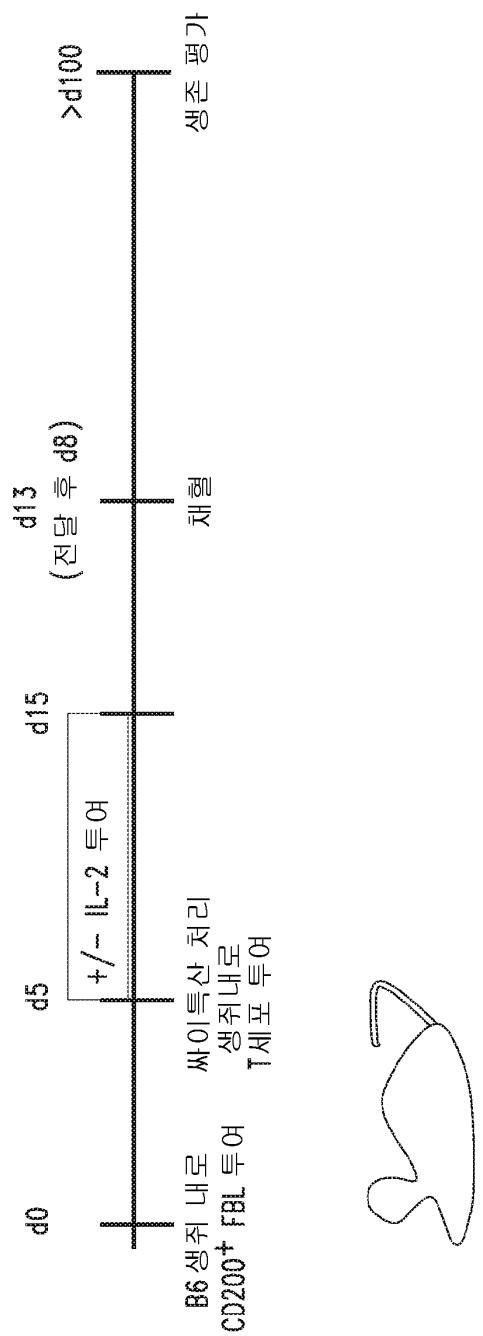
## 도면3c



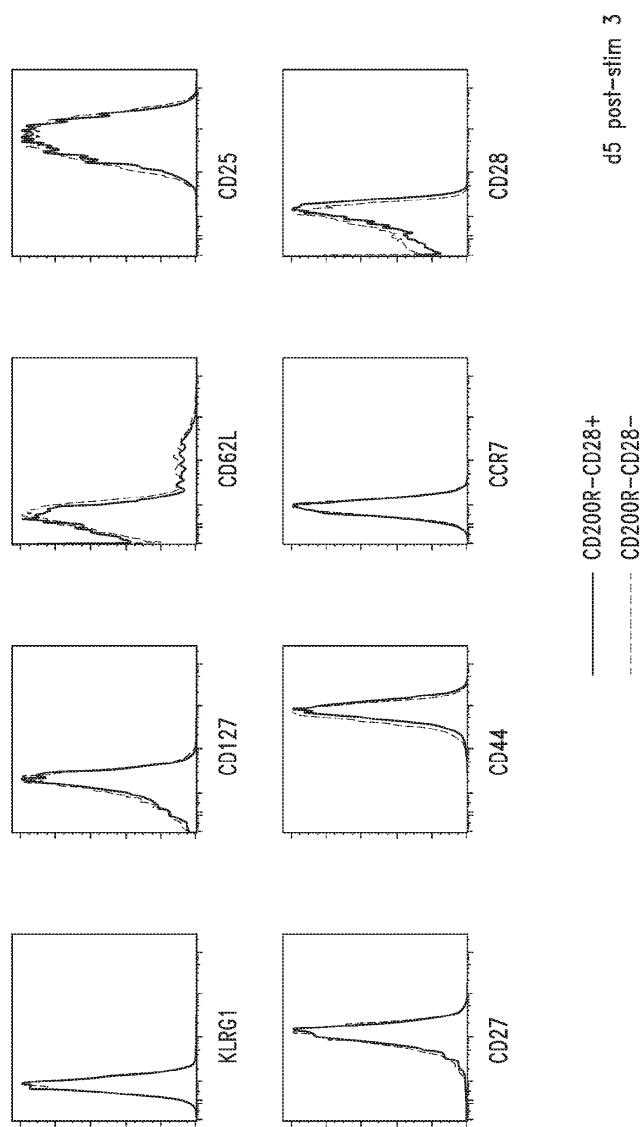
도면3d



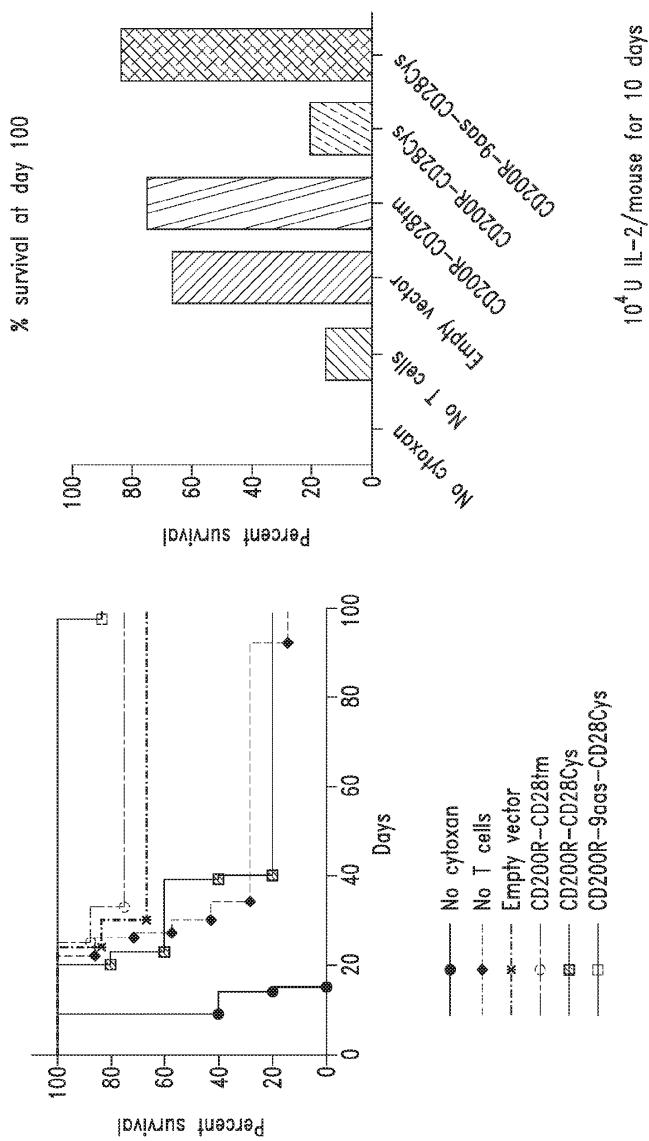
### 도면4a



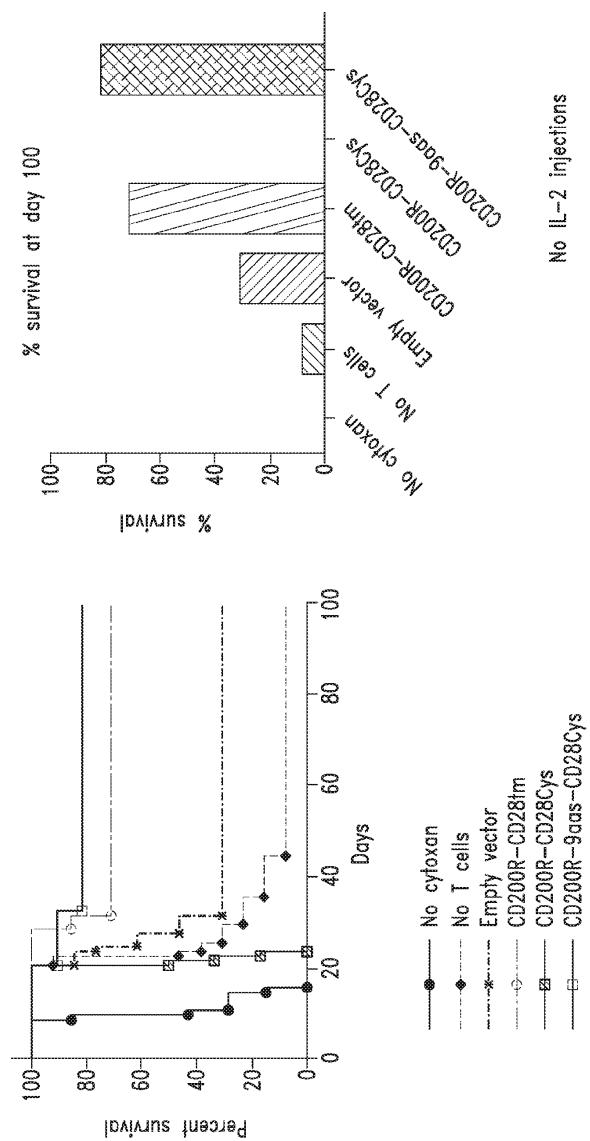
## 도면4b



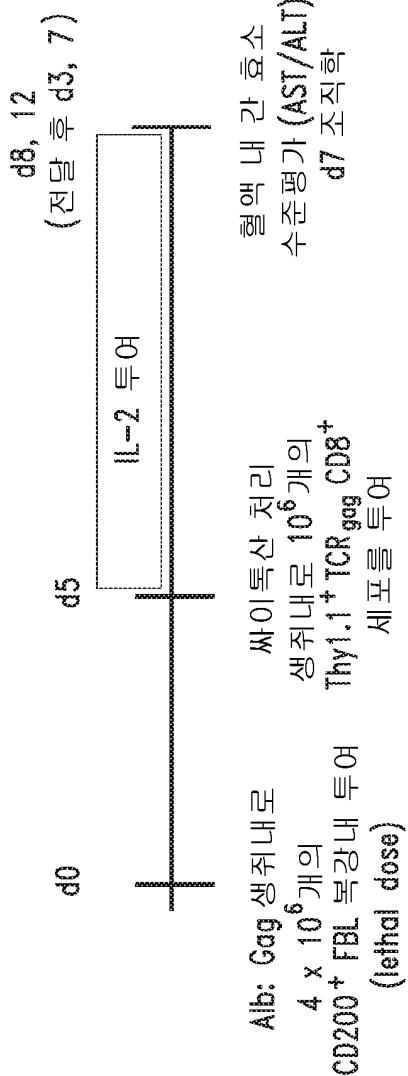
도면4c



## 도면4d

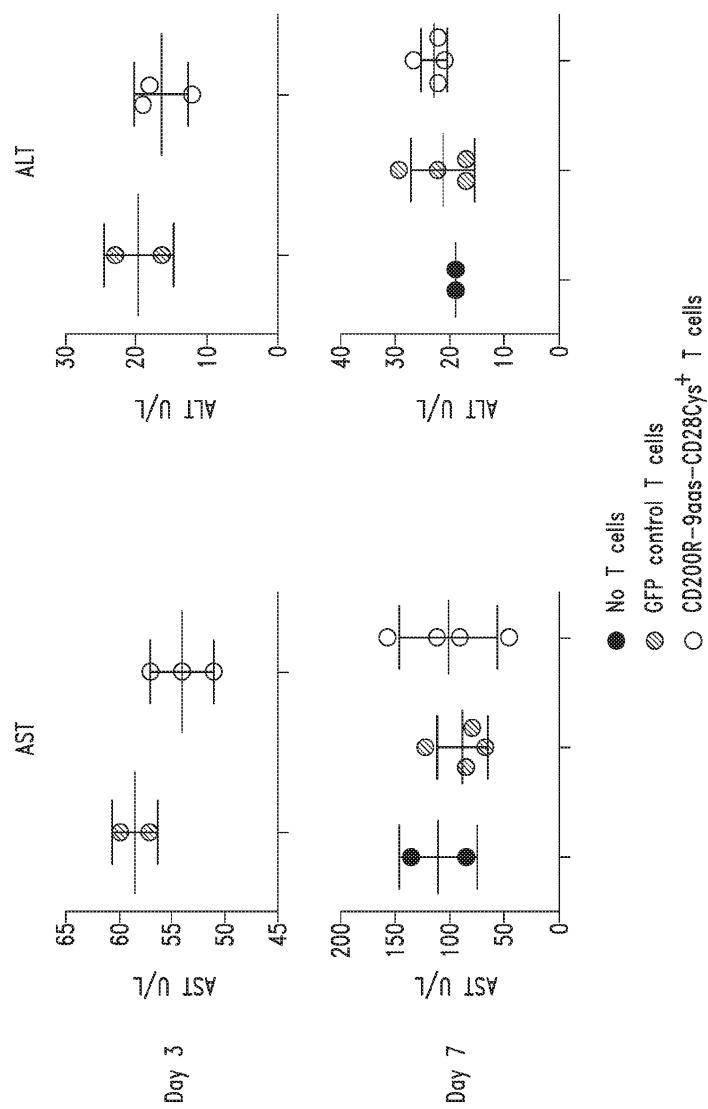


### 도면5a

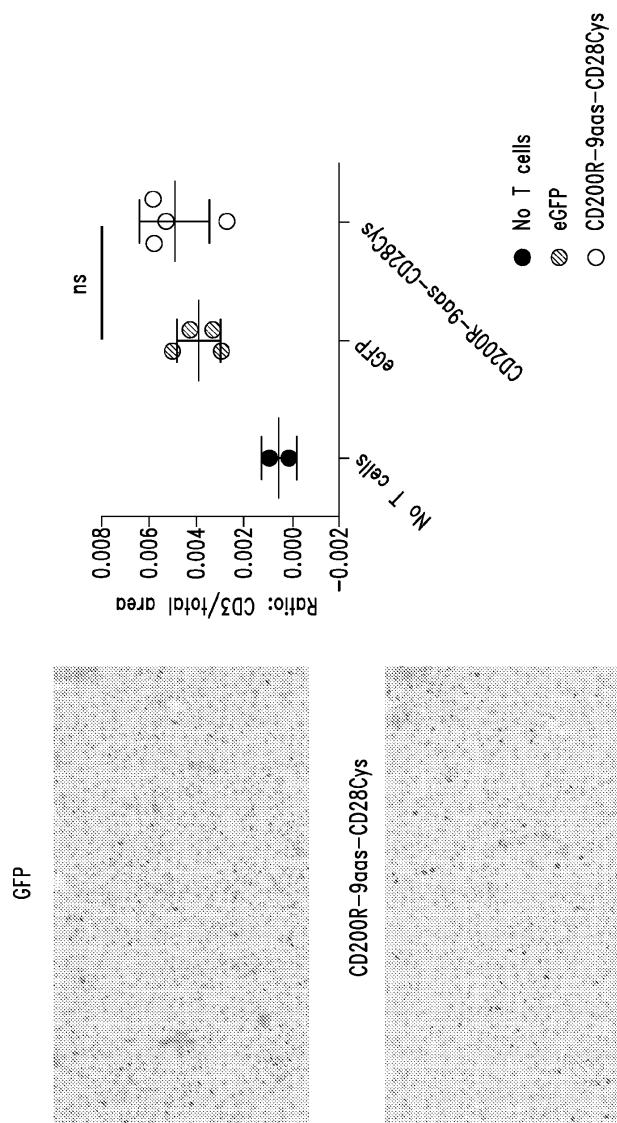


A simple line drawing of a cat's head and upper body, facing right. The cat has a rounded head, a small ear, and a bushy tail. It is drawn with a few simple lines.

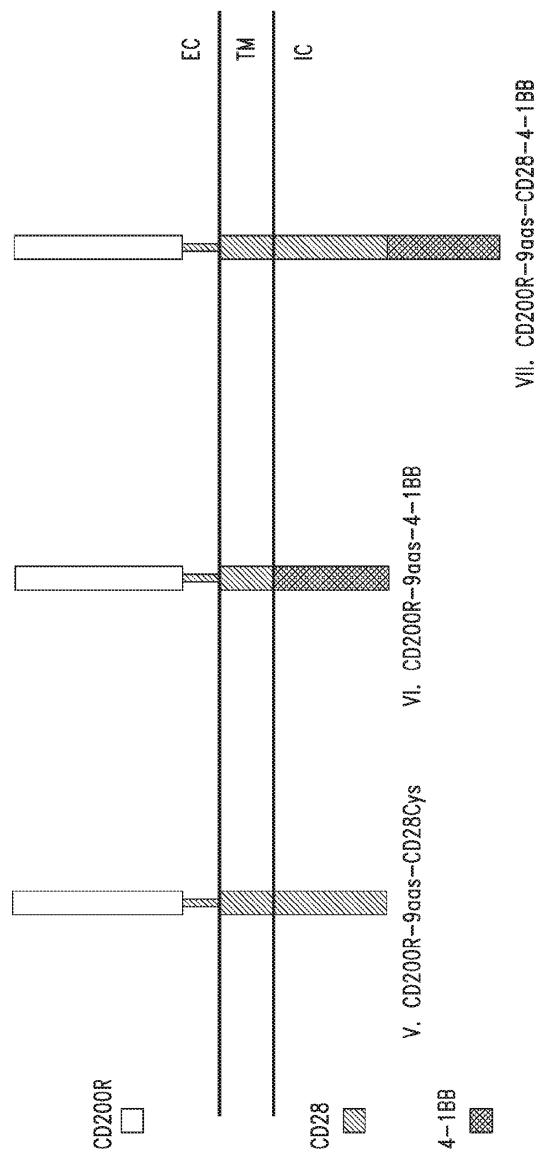
## 도면5b



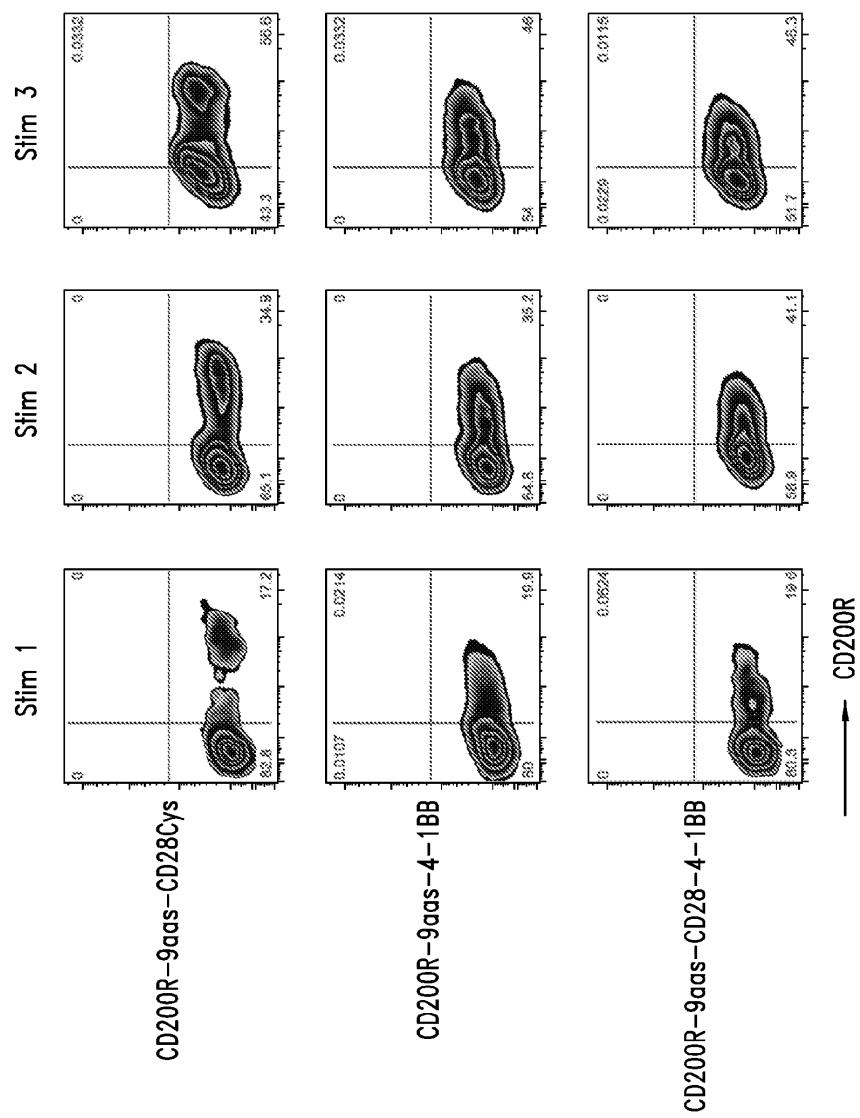
## 도면5c



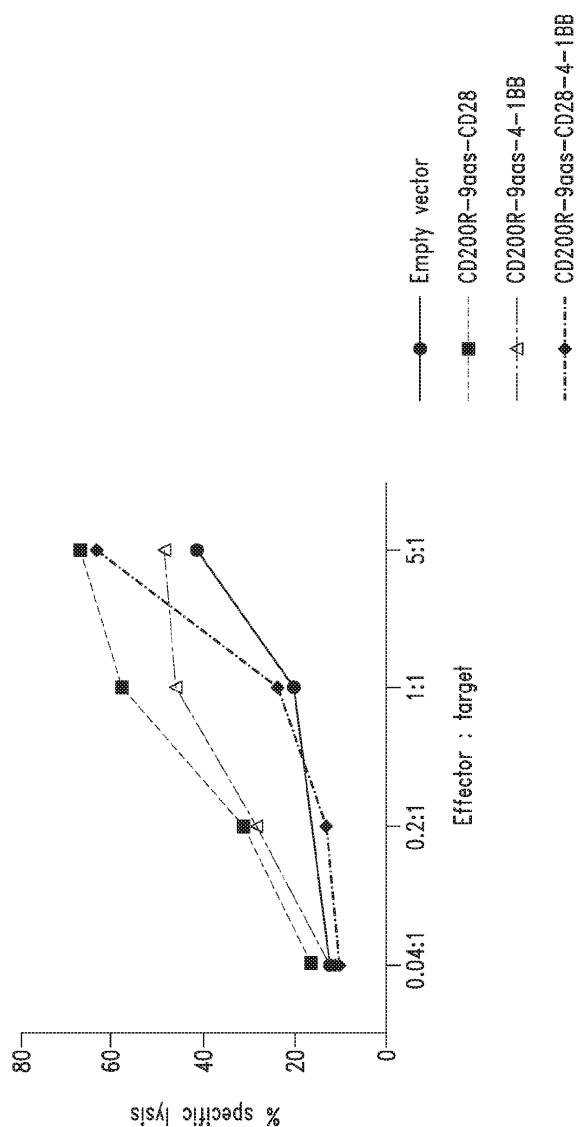
도면6a



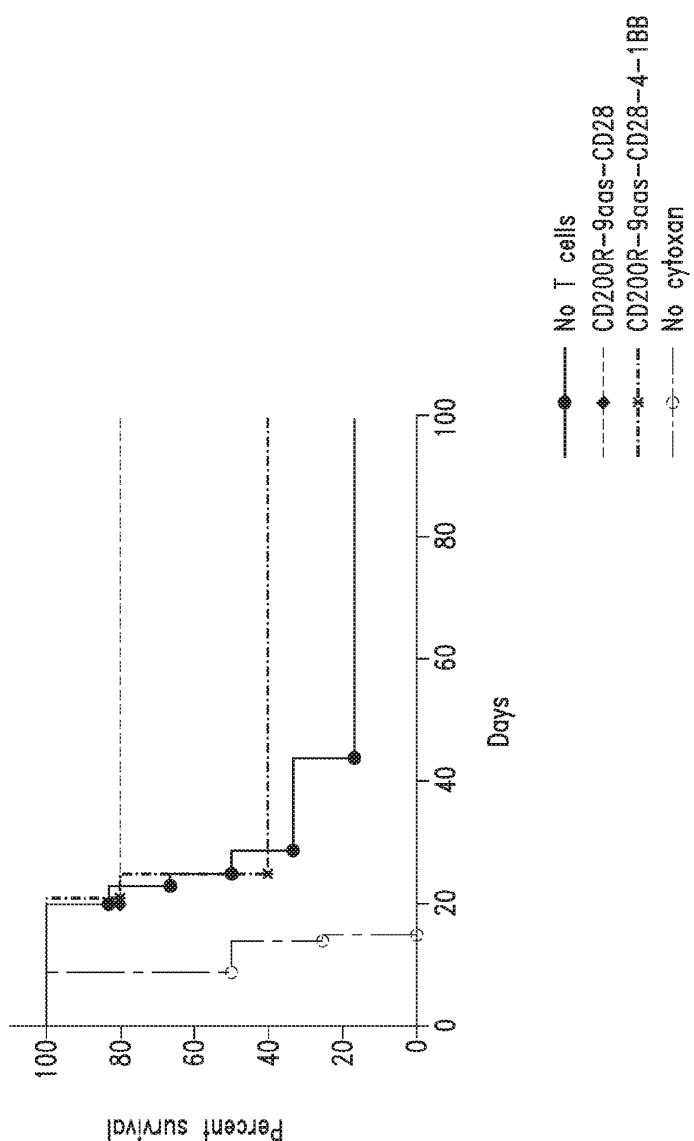
도면6b



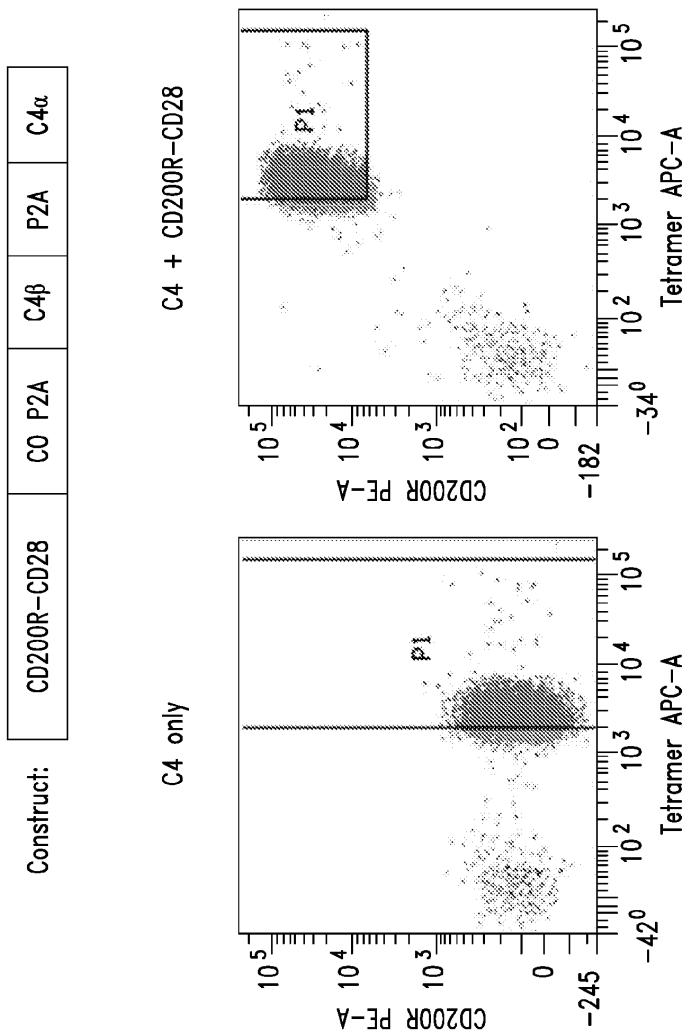
## 도면6c



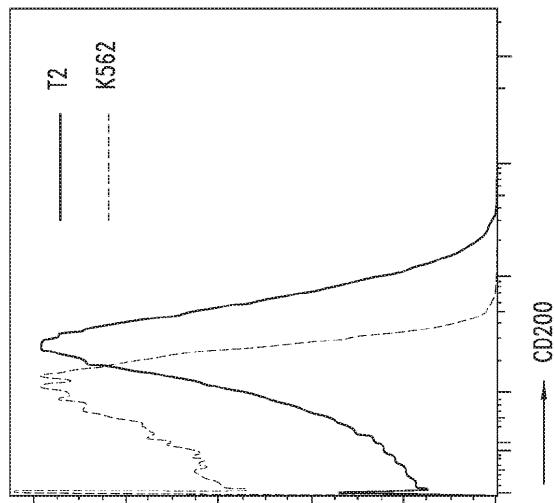
도면6d



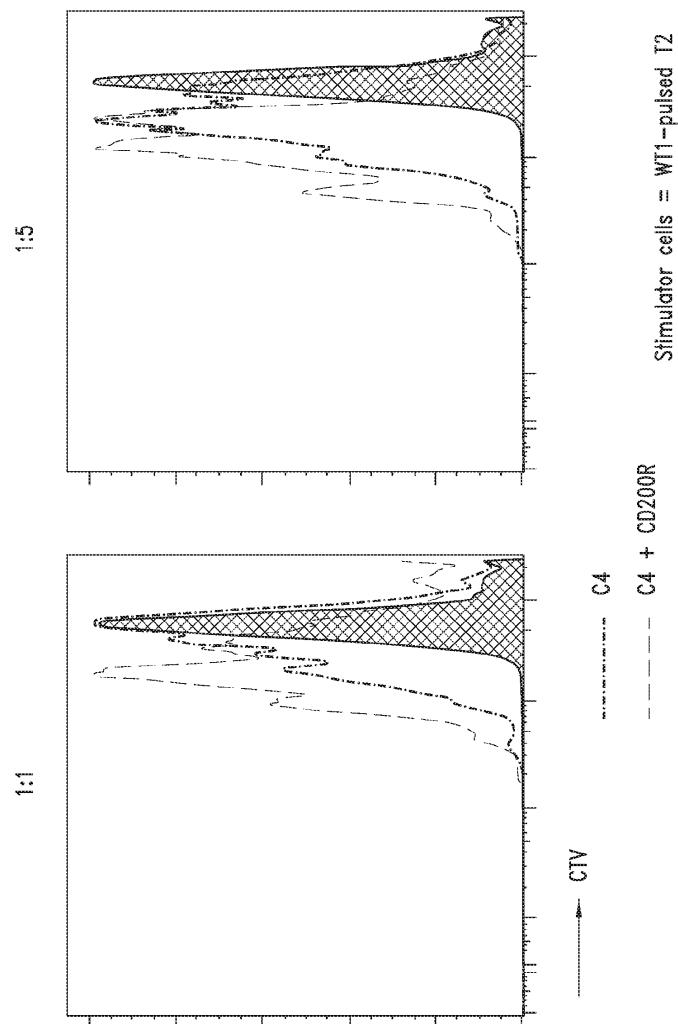
도면7a



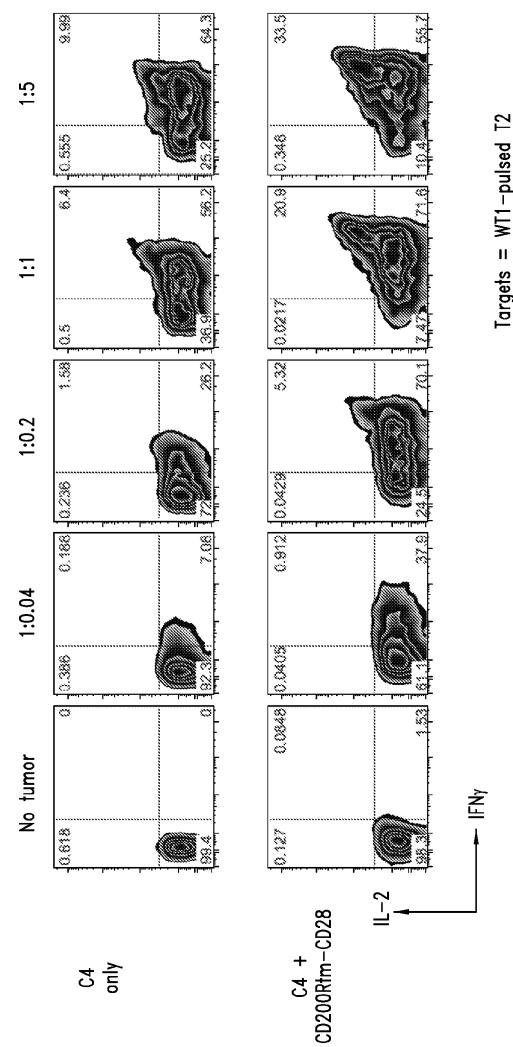
도면7b



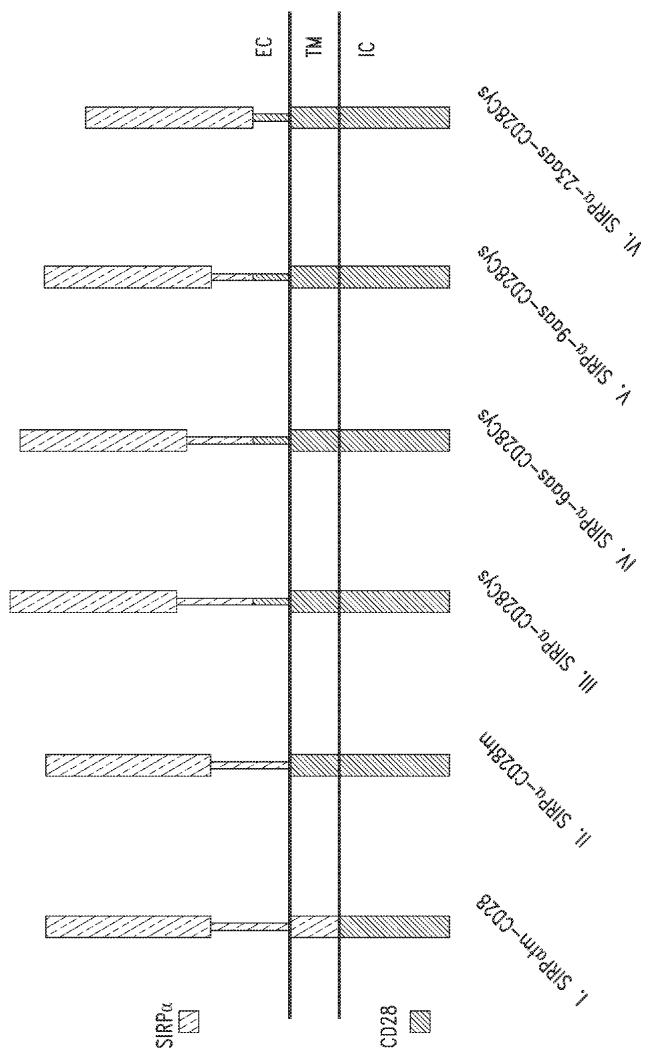
도면7c



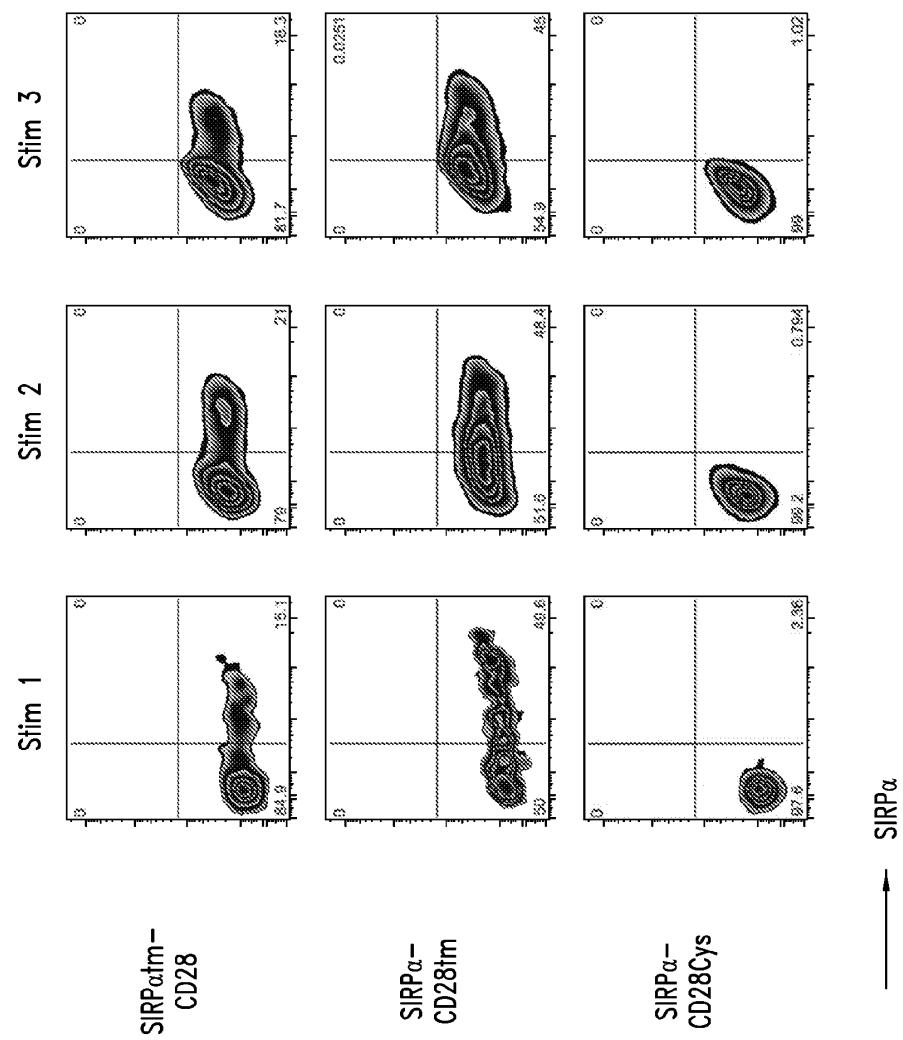
## 도면7d



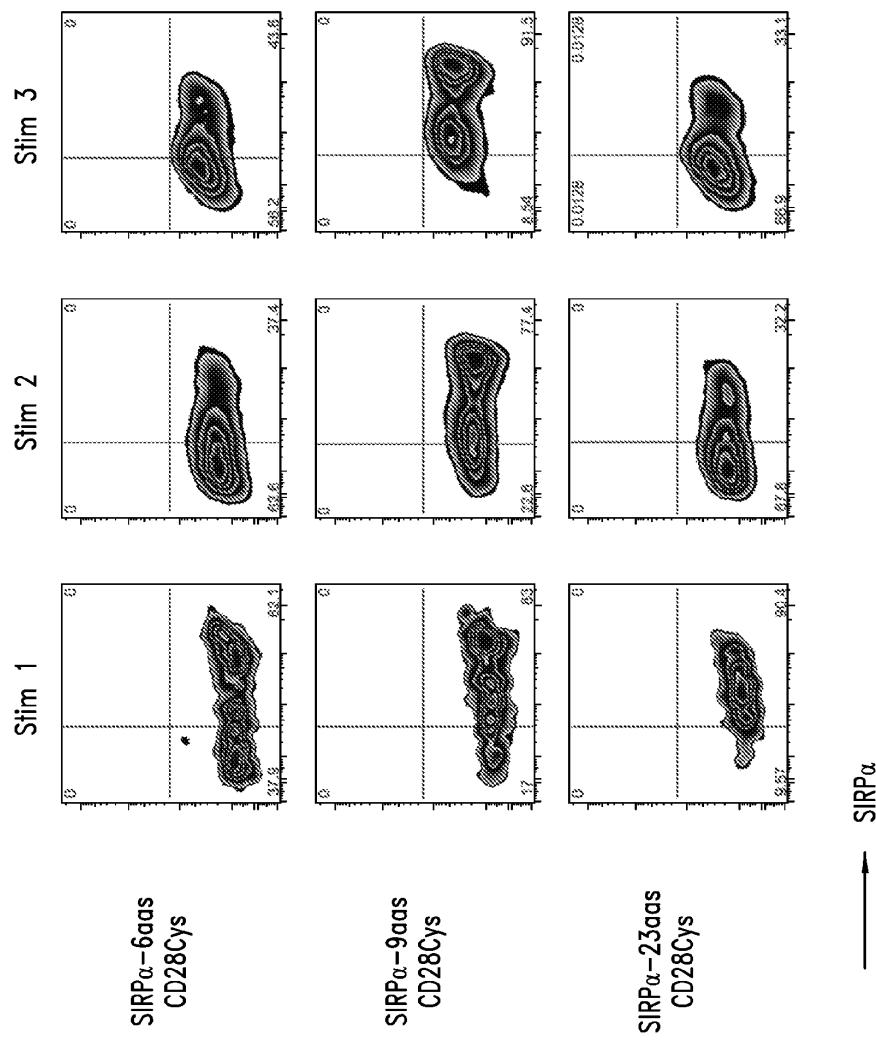
도면8a



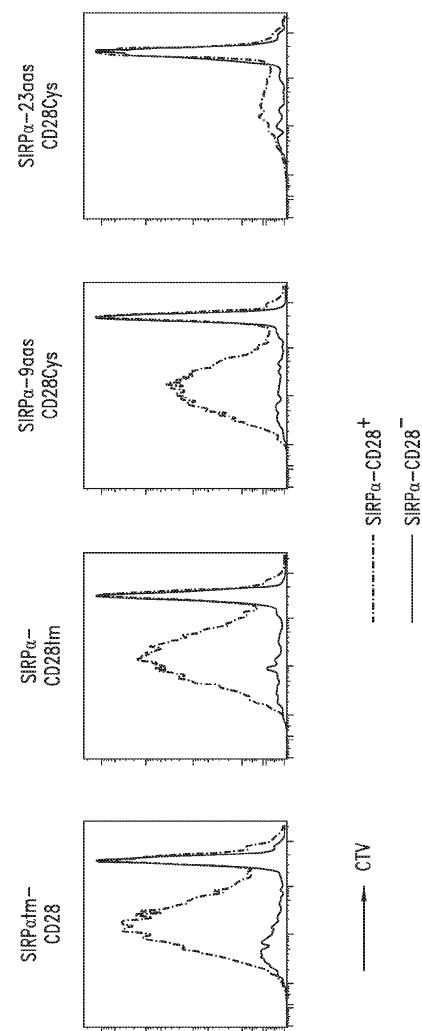
도면8ba



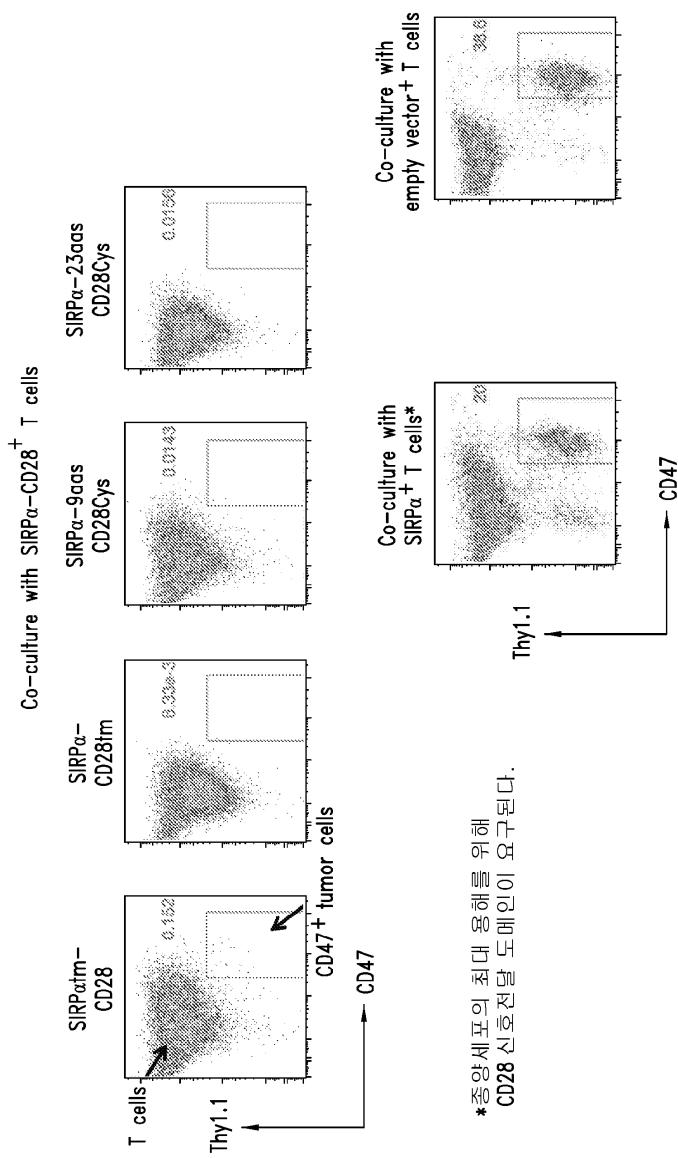
도면8bb



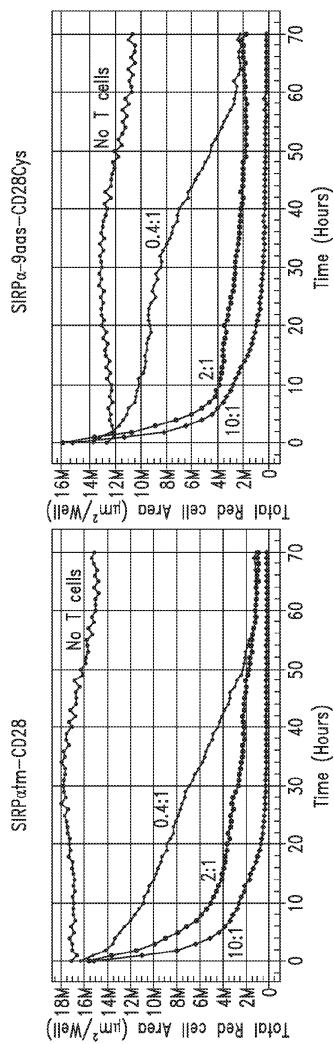
## 도면8c



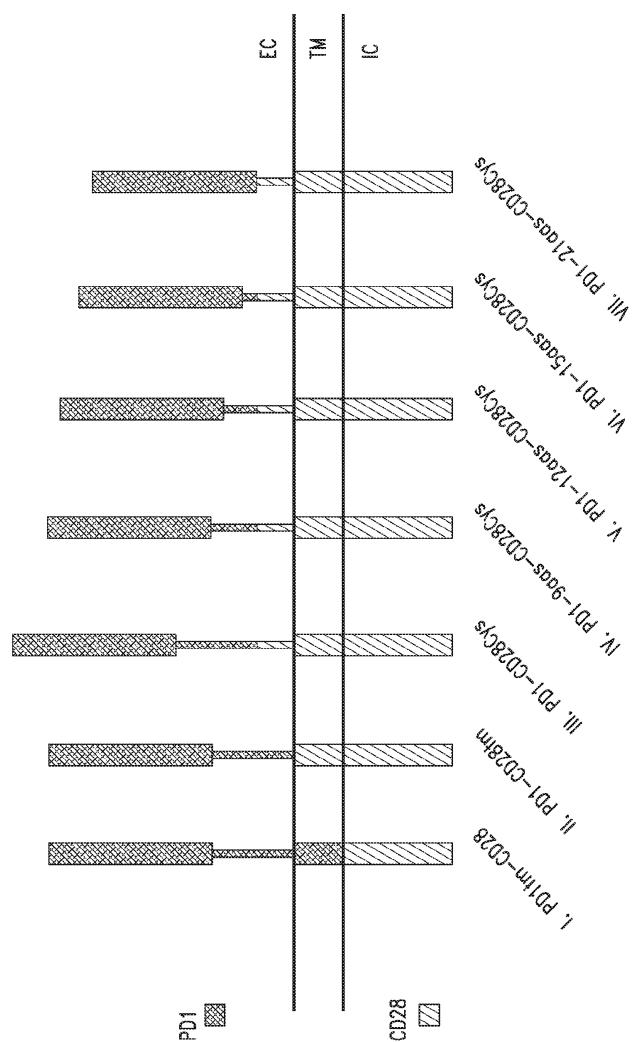
도면8d



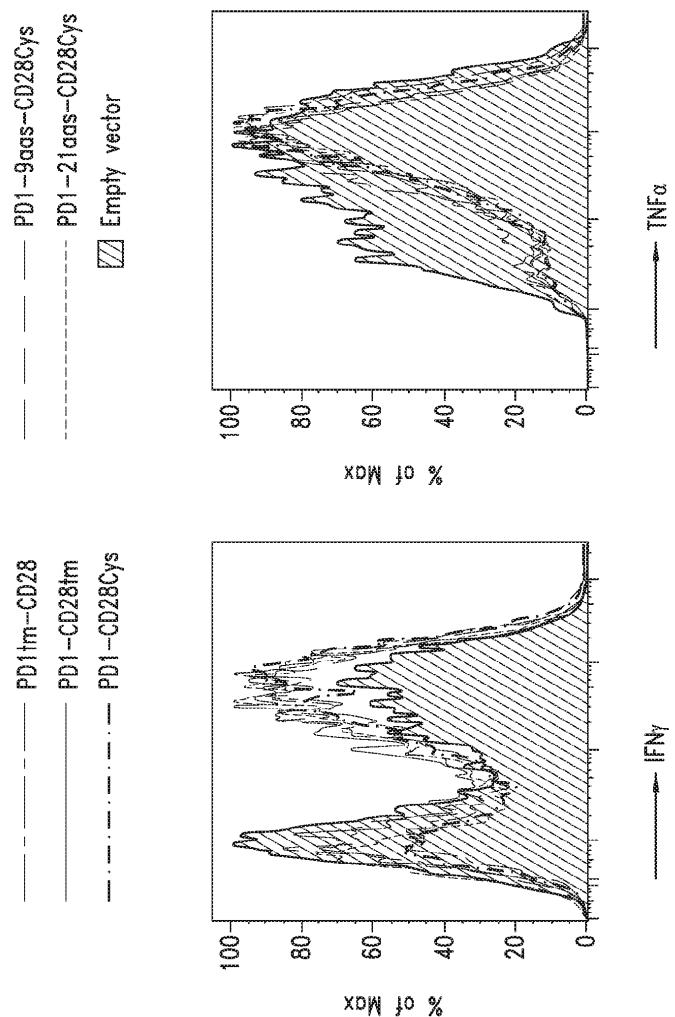
## 도면8e



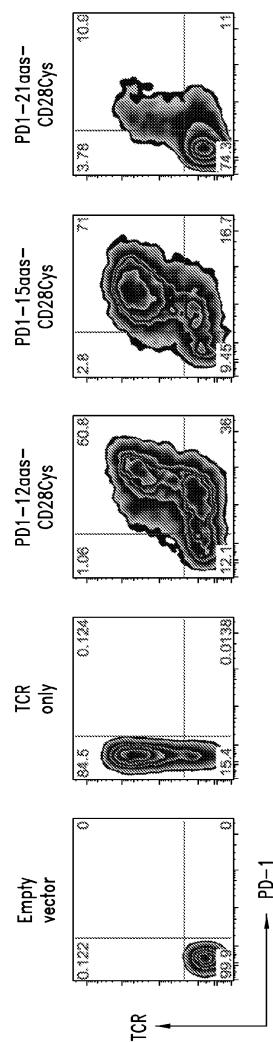
도면9a



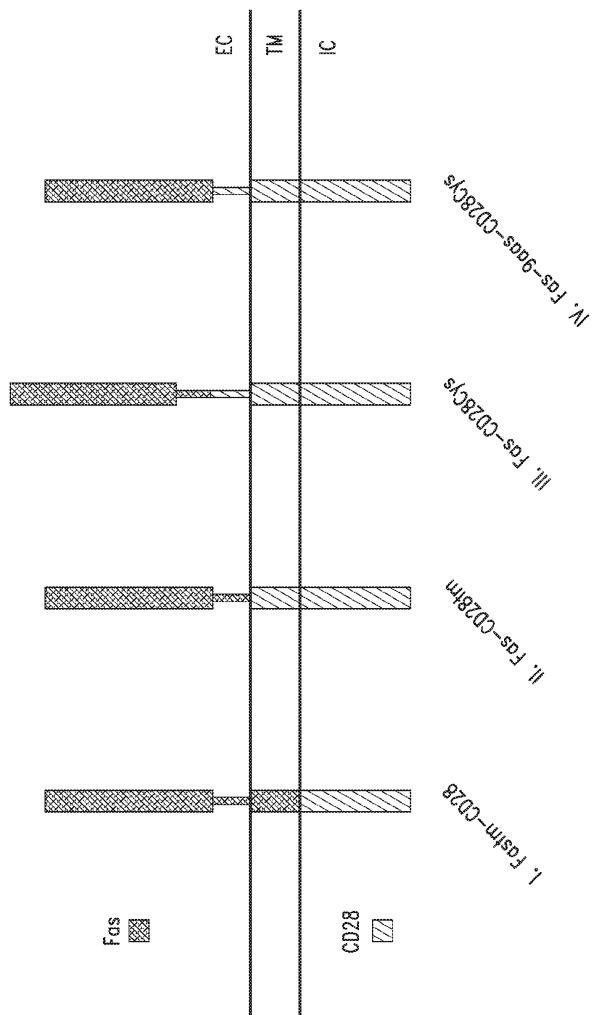
도면9b



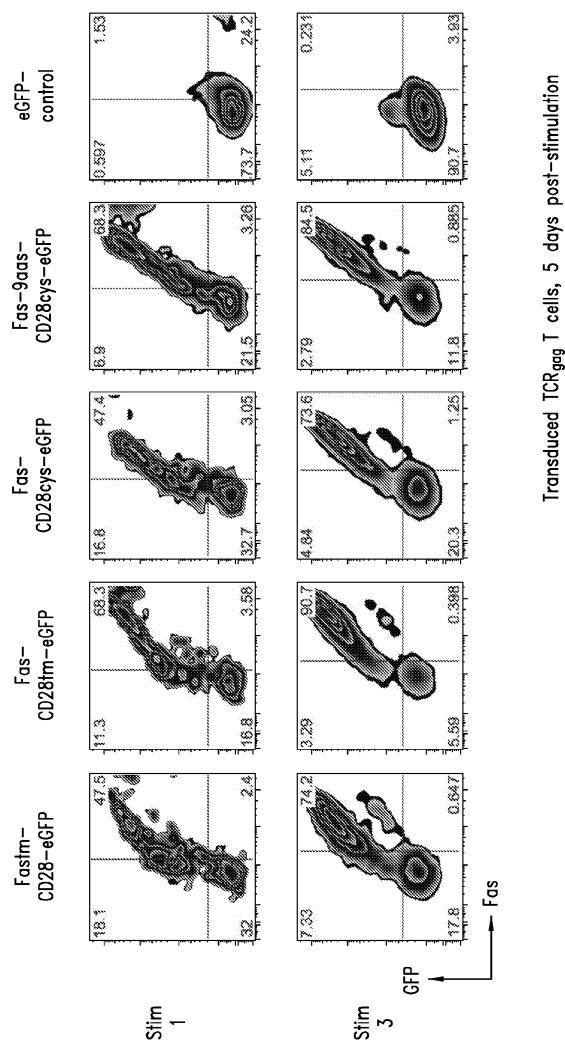
## 도면10



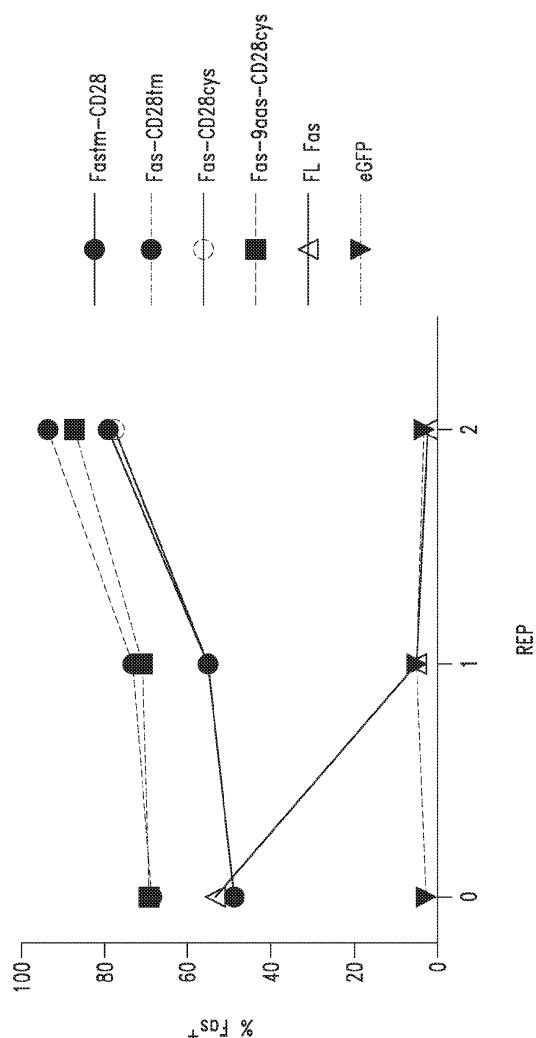
도면11a



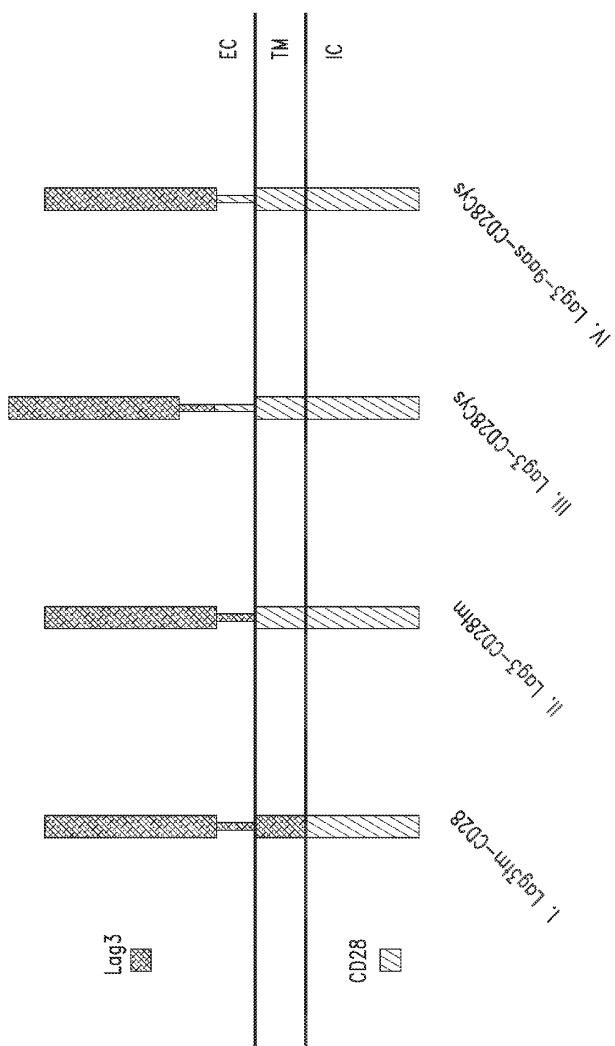
## 도면11b

Transduced TCR<sub>α</sub>g<sub>α</sub>g<sub>β</sub> T cells, 5 days post-stimulation

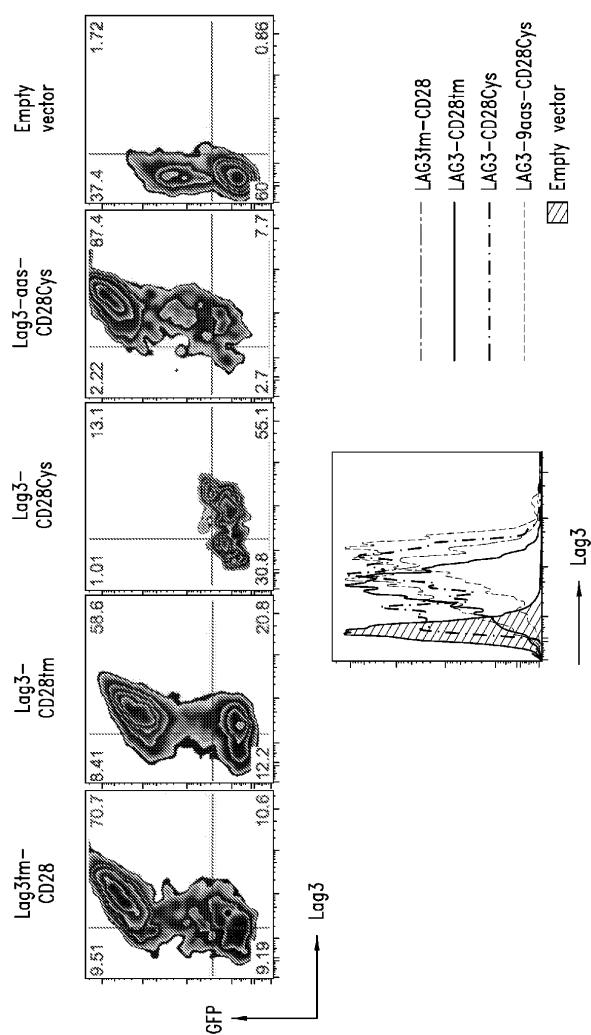
도면11c



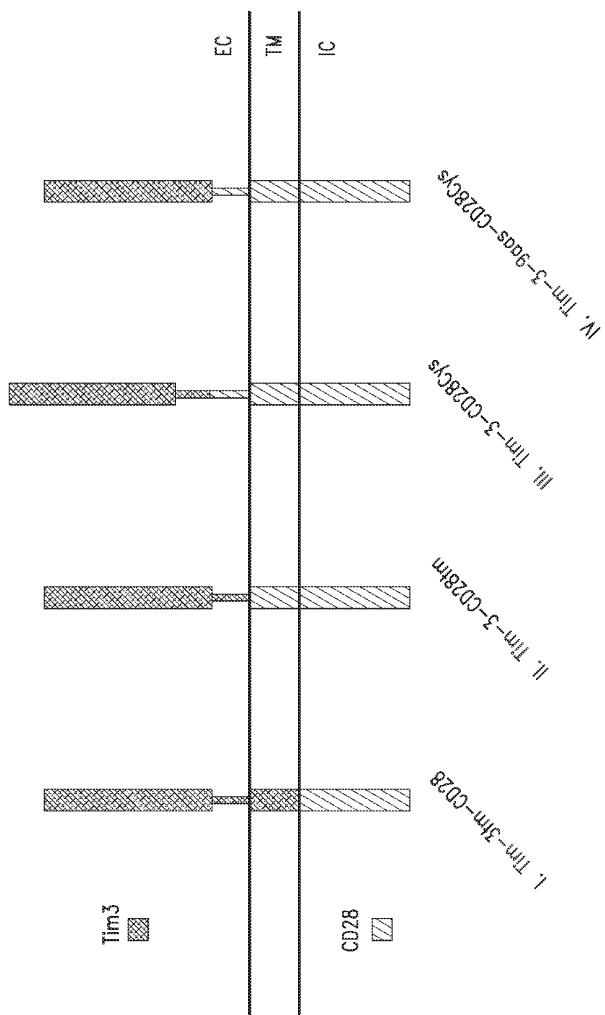
도면12a



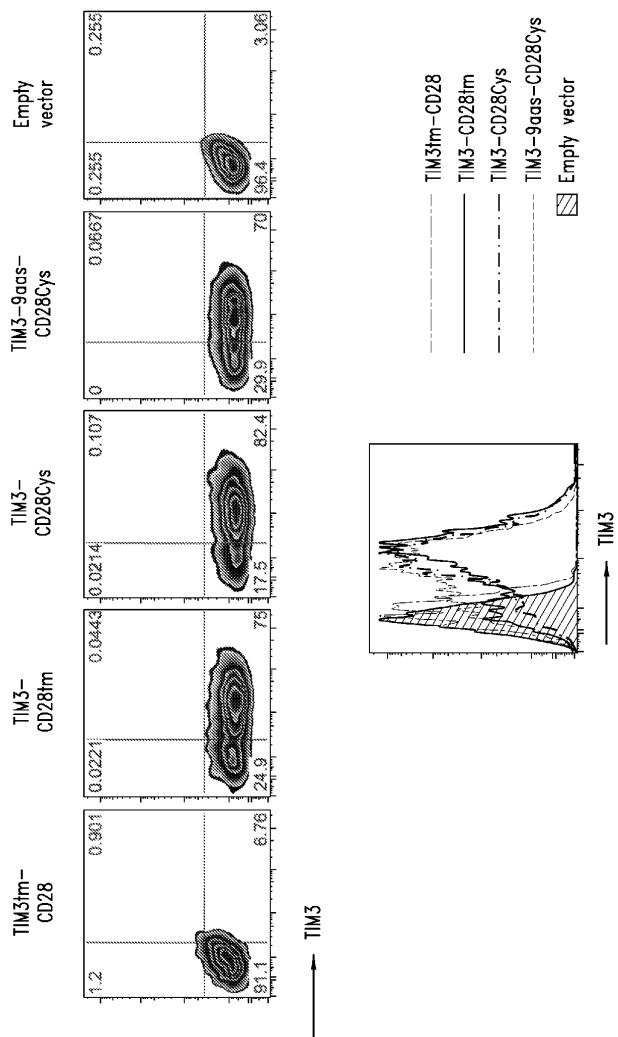
도면12b



도면13a



## 도면13b



## 서 열 목 록

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Fred Hutchinson Cancer Research Center

Oda, Shannon K.

Greenberg, Philip D.

&lt;120&gt; IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND

USES THEREOF

&lt;130&gt; 360056.433WO

&lt;140&gt; PCT

&lt;141&gt; 2016-03-04

&lt;150&gt; US 62/128,979

&lt;151&gt; 2015-03-05

&lt;160&gt; 178

&lt;170&gt; FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 915

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200Rtm-CD28 construct

<400> 1

atgcgtgcc	ctggagaac	cgcacacctg	ggcctgctgc	tgatcctgac	catttcctg	60
gtggcccca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaaggcaga	tcacccagaa	ctacagcaag	120
gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgtgtgc	180
tgcctctca	tcgcctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccggaaa	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
accgacgacg	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgacct	gcagatcaga	360
cccggtggca	tcacccacga	cggctactac	cggcatca	tggcacccc	cgtggcaac	420
ttccaccggg	gataccatct	gcaggtgctc	gtgaccccg	aagtgaccct	gttccagaac	480
cggaacagaa	ccggcgtgt	caaggccgtg	gccggaaaac	ctggcccca	gatctttgg	540
atccccgagg	gcgattgcgc	caccaagcag	gaatactgg	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccaccg	tgacatgcca	cgtgtccac	660
ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctgctgcctg	tgcctggcgc	caagaagtcc	720
gccaagctgt	acatccccta	catcatctg	acaatcatca	ttctgaccat	cgtggcttc	780
atctggctgc	tgcgcagcaa	gcccggcaga	ggcggccaca	gcgactacat	gaacatgacc	840
cctagacggc	ctggcccac	cagaaagcac	taccagccct	acgcccctcc	ccggacttt	900
gcccctaca	gaagc					915

<210> 2

<211> 728

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R entire extracellular domain

<400> 2

tgctgtgcc	ttggagaacc	gccaacctgg	gcctgctgct	gatcctgacc	atttcctgg	60
tggccgcag	cagcagcctg	tgcatggacg	agaaggcagat	cacccagaac	tacagcaagg	120

tgctggccga agtgaacacc agctggcccg tgaagatggc caccaacgcc gtgctgtgct	180
gccctccatat cgcctgcgg aacctgatca tcacatcacctg ggagatcatc ctgcggggcc	240
agcccagctg taccaaggcc taccggaaag agacaaacga gacaaaagaa acaaactgca	300
ccgacgagcg gatcacatgg gtgtccagac ccgaccagaa cagcgacactg cagatcagac	360
ccgtggccat cacccacgac ggctactacc ggtgcatacat ggtcacccccc gatggcaact	420
tccaccgggg ataccatctg caggtgctcg tgaccccgaa agtgaccctg ttccagaacc	480
ggaacagaac cggcgtgtgc aaggccgtgg ccggaaaacc tgccgcccag atctcttgg	540
tccccgaggg cgattgcgcc accaagcagg aatactggtc caacggcacc gtgaccgtga	600
agtccacctg tcactggag gtgcacaacg tgtccaccgt gacatgccac gtgtcccacc	660
tgaccggcaa caagagcctg tacatcgagc tgctgcctgt gcctggcgcc aagaagtccg	720
ccaagctg	728
<210> 3	
<211> 63	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huCD200R transmembrane domain	
<400> 3	
tacatccct acatcatcct gacaatcatc attctgacca tcgtggcctt catctggctg	60
ctg	63
<210> 4	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> CD28 transmembrane domain	
<400> 4	
ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg	60
gccttcatca tctttgggt c	81
<210> 5	
<211> 123	
<212> DNA	

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD28 intracellular domain

&lt;400&gt; 5

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct	60
ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga	120
agc	123

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 933

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-CD28tm construct

&lt;400&gt; 6

atgcgtgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catttctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcattggac gagaaggcaga tcacccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggcc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgtgtgc	180
tgcctctta tcgcctgctg gAACCTGATC atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctacggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccggtggca tcacccacga cggctactac cggcatca tggcacccc cgatggcaac	420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccggcgtgtg caaggccgtg gcccggaaac ctggcccca gatctttgg	540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc	720
gccaagctgt tctgggtgct ggtgggtgtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg	780
gtcaccgtgg ctttcatcat ctttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc	840

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac	900
gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga agc	933

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 942

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-9aas-CD28Cys construct

&lt;400&gt; 7

atgctgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatccgtac catttctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcattggac gagaaggaga tcacccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgcctccta tcgcccgtcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240

cagcccagct gtaccaaggc ctacggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccggtggca tcacccacga cggctactac cggtgcatac tggtcacccc ccatggcaac	420
ttccacccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgcccggca gatctttgg	540
atccccagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgttccac	660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgtgtcccg ccctctgttt	720
cccgcccta gcaaggcctt ctgggtgctg gtgggtggcg gaggcgtgct ggcctgctac	780
agcctgtgg tcacccgtggc cttcatcatc ttttgggtcc gcagcaagcg gagcagaggc	840
ggccacacgcg actacatgaa catgacccct agacggccgtg gccccaccag aaagcactac	900
cagccctacg cccctcccg ggactttgcc gcctacagaa gc	942

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 702

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-9aas portion of extracellular domain

&lt;400&gt; 8

atgctgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatccgtac catttctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcattggac gagaaggaga tcacccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgcctccta tcgcccgtcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240

cagcccagct gtaccaaggc ctacggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccggtggca tcacccacga cggctactac cggtgcata tggcacccc cgatggcaac	420
ttccacccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctggcccca gatctttgg	540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatacttgtt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgacccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tg	702
<210> 9	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> CD28Cys multimerization domain	
<400> 9	
tgtcccaagcc ctctgtttcc cggcccttagc aagcct	36
<210> 10	
<211> 933	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huCD200R-12aas-CD28Cys construct	
<400> 10	
atgcgtgtgcc ctggagaac cgcacacgt ggcctgctgc tgcgtgttgc catcttcgt	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcgtggac gagaaggcaga tcacccagaa ctacagcaag	120
gtgcgtggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgcgtgc	180
tgcctctcta tcgcctgctgaaacgtgtatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctacggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccggtggca tcacccacga cggctactac cggtgcata tggcacccc cgatggcaac	420
ttccacccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctggcccca gatctttgg	540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccc tgacatgcca cgtgtccac 660  
 ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccgccct 720  
 agcaagcctt tciggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggctgcta cagccigtg 780

gtcaccgtgg cttcatcat ctgggtc cgccagcaagc ggaggcaggc cggccacagc 840  
 gactacatga acatgacccc tagacggcct ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac 900  
 gcccctcccc gggactttgc cgccctacaga agc 933

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 693

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-12aas portion of extracellular domain

&lt;400&gt; 11

atgcgtgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catttctg 60  
 gtggccgcca gcagcggcct gtgcatggac gagaaggcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180  
 tgccctccta tcgcccgtcg gAACCTGATC atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240  
 cagcccagct gtaccaaggc ctacggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300  
 accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcggaccc gcagatcaga 360  
 cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggcatca tggcaccc cgtggcaac 420  
 ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtggccct gttccagaac 480  
 cggaacagaa ccggcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctggcccca gatctttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccc tgacatgcca cgtgtccac 660  
 ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctg 693

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 945

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic construct

&lt;400&gt; 12

atgcgtgtgcc	cttggagaac	cgccaacctg	ggcctgctgc	tgatcctgac	catttctcg	60
gtggccgcca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaaggaga	tcacccagaa	ctacagcaag	120

gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgctgtgc	180
tgcctctca	tcgcctcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccggaaa	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300
accgacgagc	ggatcacatg	ggtgtccaga	cccgaccaga	acagcgcac	gcagatcaga	360
cccggtggca	tcacccacga	cggctactac	cggcatca	tggcacccc	cgtggcaac	420
ttccaccggg	gataccatct	gcaggtgctc	gtgaccccg	aagtgacccct	gttccagaac	480
cggAACAGAA	ccggcgtgt	caaggccgt	gccggaaaac	ctggcccca	gatctttgg	540

atccccgagg	gcgattgcgc	caccaaggcag	gaatactgg	ccaacggcac	cgtgaccgtg	600
aagtccacct	gtcactggga	ggtgcacaac	gtgtccac	tgacatgcca	cgtgtccac	660
ctgaccggca	acaagagcct	gtacatcgag	ctgctgcctg	tgtgtccag	ccctctgttt	720
cccgcccta	gcaaggcctt	ctgggtgt	gtgggtgtcg	gaggcgtgt	ggcctgtac	780
agcctgtgg	tcaccgtggc	cttcatcatc	tttgggtca	agcggggcag	aaagaagctg	840
ctgtacatct	tcaaggcagcc	tttcatgccc	cccggtcaga	ccacccagga	agaggacggc	900
tgctcctgca	attccccga	ggaagaagaa	ggcggctg	agctg		945

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 126

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 4-1BB intracellular component

&lt;400&gt; 13

aagcggggca	gaaagaagct	gctgtacatc	ttcaaggcagc	ctttcatg	gcccgtgcag	60
accacccagg	aagaggacgg	ctgctcctgc	agattccccg	aggaagaaga	aggcggctgc	120
gagctg						126

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 936

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic construct

&lt;400&gt; 14

atgctgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaaggcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccg gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctctta tcgcctgctg gAACCTGATC atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccggtggca tcacccacga cggctactac cggcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac 480

cggaacagaa ccggcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctggcccca gatctttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatacttgtt ccaacggcac cgtgaccgtg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gcctctgtt tccggccct 720

agcaagecct tctgggtgct ggtgggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ctttcatcat cttttgggtc aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc 840

ttcaaggcgc ctttcatgctg gcccgtgcag accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc 900

agattccccg aggaagaaga aggccggctgc gagctg 936

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 1059

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic construct

&lt;400&gt; 15

atgctgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaaggcaga tcacccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccg gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctctta tcgcctgctg gAACCTGATC atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccggtggcca tcacccacga cggtactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccggcgtgt caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccc gatctttgg	540
atccccgagg gcgatgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gcccctgtt tccggccct	720
agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtgct ggaggcgtgc tggctgcta cagcctgctg	780
gtcacccgtgg ctttcatcat ctttgggtc cgccagcaagc ggagcagagg cggccacagc	840
gactacatga acaatgacccc tagacggcct ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac	900
gccccctcccc gggactttgc cgccctacaga agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac	960
atcttcaagc ageccttcat gggcccggtg cagaccaccc aggaagagga cggctgtcc	1020
tgtagattcc ccgaggaaga agaaggcggc tgcgagctg	1059

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 1305

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

<223> huSIRPalpha<sup>m</sup>-CD28 construct

&lt;400&gt; 16

atggAACCTG CCGGACCTGC TCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGTGTCT GCTGCTGGCC	60
GCCTCTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTGTAT CCAGCCCGAC	120
AAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGGCGAAACC GCCACCTGA GATGTACAGC CACCAGCCTG	180
ATCCCCGTGG GCCCATCCA GTGGTTAGA GGCCTGGCC CTGGCAGAGA GCTGATCTAC	240
AACCAGAAAG AGGGCCACTT CCCCAGAGTG ACCACCGTGT CCGACCTGAC CAAGCGGAAC	300
AACATGGACT TCAGCATCG GATCGGCAAC ATCACCCCTG CGATGCCGG CACCTACTAC	360

TGCGTGAAGT TCCGGAAGGG CAGCCCCGAC GACGTGGAAT TCAAAAGCGG AGCCGGCACC	420
GAGCTGAGCG TGCGGGCTAA ACCTTCTGCC CCTGTGGTGT CTGGACCTGC CGCCAGAGCT	480
ACACCTCAGC ACACCGTGTCTTTACCTGC GAGAGCCACG GCTTCAGCCC CAGAGACATC	540
ACCCCTGAAGT GGTCAAGAA CGGCAACGAG CTGTCCGACT TCCAGACCAA CGTGGACCC	600
GTGGCGAGA CGGTGTCCTA CAGCATCCAC AGCACCGCCA AGGTGGTGT GACCCCGAA	660
GATGTGCACA GCCAAGTGTAT CTGCGAGGTG GCCCACGTGA CACTGCAGGG CGATCCTCTG	720

agaggaacctg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccaccctgga agtgaccagg	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacccgtc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagccgtgc agctgacactg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgtc cgtgaacgtg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccagggtgg aacacgacgg ccagccgtc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccattcca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gccggcgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctaca tcgtcgtggg cgtcgtgtc	1140
accctgctgg tggcactgct gatggccgct ctgtacctcg tgccgaccaa gcggagcaga	1200
ggcgccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggcccccac cagaaagcac	1260
taccagccct acgcccctcc ccggacttt gccgcctaca gaagc	1305
<210> 17	
<211> 1119	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha entire extracellular domain	
<400> 17	
atggAACCTG CCGGACCTGC TCCCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGTGTCT GCTGCTGGCC	60
GCCTCTTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTGTAT CCAGCCCGAC	120
AAAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGCGAAACC GCCACCTGA GATGTACAGC CACCAGCCTG	180
atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgcgtggcc ctggcagaga gctgtatctac	240
aaccagaaag agggccactt ccccaagatgt accaccgtgt ccgacccgtac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatccg gatcgcaac atcacccctg ccgtatggccg cacctactac	360
tgcgtgaagt tccggaaagg cagcccccac gacgtggaaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtgggtt ctggacccgtc cgccagagct	480
acacccctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gttcagcccc cagagacatc	540
accctgaagt gttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtggcgcaga gctgttccta cagcatccac agcaccgcca aggtgggtct gacccgcgaa	660
gatgtgcaca gccaagtgtat ctgcgagggtg gcccacgtga cactgcaggcg cgatccctgt	720
agaggaacctg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccaccctgga agtgaccagg	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacccgtc aagtgcggaa gttctacccc	840

cagcggtgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtaacgtg	960
tccggccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gccggcggaga acaccggcag caacgagcgg aacatctac	1119
<210> 18	
<211> 63	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha transmembrane domain	
<400> 18	
atcgctgtgg gcgtcggtgt caccctgctg gtggcactgc tgatggccgc tctgtacctc	60
gtg	63
<210> 19	
<211> 1323	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha-CD28tm construct	
<400> 19	
atggAACCTG CCGGACCTGC TCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGTGTCT GCTGCTGCC	60
GCCTCTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTGTAT CCAGCCGAC	120
AAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGGCGAAACC GCCACCCCTGA GATGTACAGC CACCAGCTG	180
ATCCCCGTGG GCCCATCCA GTGGTTAGA GGCCTGGCC CTGGCAGAGA GCTGATCTAC	240
AACCAGAAAG AGGGCCACTT CCCCAGAGTG ACCACCGTGT CGCACCTGAC CAAGCGGAAC	300
AACATGGACT TCAGCATCCG GATCGGCAAC ATCACCCCTG CGATGCCGG CACCTACTAC	360
TGCGTGAAGT TCCGGAAGGG CAGCCCCGAC GACGTGGAAT TCAAAAGCGG AGCCGGCACC	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
acacccctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gttcagccc cagagacatc	540
accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcga	660

gatgtgcaca gccaagtat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctcg	720
agaggaacctt ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccacccttggaa agtgacccag	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
tccggccacc gggacgtatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatttcca aagagcaggg ctccaaacaca	1080
gccggcgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctact tctgggtgct ggtgggtgc	1140
ggagggctgc tggctgcta cagcctgtc gtcaccgtgg ctttcatcat ctttgggtc	1200
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct	1260
ggcccccacca gaaagacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgccctacaga	1320
agc	1323
<210> 20	
<211> 1323	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha 12aas-CD28Cys construct	
<400> 20	
atggAACCTG CCGGACCTGC TCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGTGTCT GCTGCTGGCC	60
GCCTCTTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTAT CCAGCCCGAC	120
AAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGGCGAAACC GCCACCTGA GATGTACAGC CACCAGCCTG	180
ATCCCCGTGG GCCCATCCA GTGGTTAGA GGCCTGGCC CTGGCAGAGA GCTGATCTAC	240
aaccagaaag agggccactt ccccaagatg accaccgtgt ccgacactgac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatccg gatcggtcaac atcacccctg ccgtatggcgg cacctactac	360
tgcgtgaagt tccggaaagg cagccccgac gacgtggaaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtgggtt ctggacactgc cgccagagct	480
acacactcagc acaccgtgtc ttttacactgc gagagccacg gttcagcccc cagagacatc	540
accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggacccct	600
gtggcggaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccggca aggtgggtct gacccggaa	660
gatgtgcaca gccaagtat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctcg	720

agaggaacctg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccaccctgga agtgaccagg	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aatigatga gctggctgtc cgtgaacgtg	960
tccggccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgttccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccattcca aagagcaggg ctccaacaca	1080

gcctgtccca gcccctgtt tcccgccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtgtc	1140
ggaggcgtgc tggctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ctttcatcat cttttggtc	1200
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct	1260
ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga	1320
agc	1323

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 1083

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha 12aas portion of extracellular domain

&lt;

400&gt; 21

atggAACCTG CCGGACCTGC TCTGGCAGA CTGGACCTC TGTGTGTCT GTCGTGCC	60
GCCTTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTGTAT CCAGCCGAC	120
AAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGGCGAAACC GCCACCTGA GATGTACAGC CACCAGCCTG	180
ATCCCCGTGG GCCCATCCA GTGGTTAGA GGCCTGGCC CTGGCAGAGA GCTGATCTAC	240
AACCAGAAAG AGGGCCACTT CCCCAGAGTG ACCACCGTGT CGCACCTGAC CAAGCGAAC	300
AACATGGACT TCAGCATCG GATCGGCAAC ATCACCCCTG CGATGCCGG CACCTACTAC	360
TGCGTGAAGT TCCGGAAGGG CAGCCCCGAC GACGTGGAAT TCAAAAGCGG AGCCGGACCC	420

GAGCTGAGCG TCGGGCTAA ACCTTCTGCC CCTGTGGTGT CTGGACCTGC CGCCAGAGCT	480
ACACCTCAGC ACACCGTGTCTTTACCTGC GAGAGCCACG GCTTCAGCCC CAGAGACATC	540
ACCCCTGAAGT GGTCAAGAA CGGCAACGAG CTGTCCGACT TCCAGACCAA CGTGGACCC	600
GTGGCGAGA CGGTGTCCTA CAGCATCCAC AGCACCGCCA AGGTGGTGT GACCCCGAA	660
GATGTGCACA GCCAAGTGTAT CTGCGAGGTG GCCCACGTGA CACTGCAGGG CGATCCTGT	720
AGAGGAACCG CCAACCTGTG CAGAGACAATC AGAGTGCAGCC CGACCC	780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctaccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgttcaaga gccacgatct gaaggtgtca gccccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gcc	1083
<210> 22	
<211> 1326	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm-4lBBic construct	
<400>	
22	
atgaaacctg cgggacactgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
gccttctgtg ctggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgtat ccagcccgac	120
aagagcgtgc tggggccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg	180
atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgtatctac	240
aaccagaaag agggccactt ccccgagatg accaccgtgt ccgaccctgac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatccg gatcgcaac atcaccctg ccgatgccgg cacctactac	360
tgcgtgaagt tccggaaggg cagcccccac gacgttggaaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgccccctaa accttctgcc cctgtgggtt ctggacactgc cgccagagct	480
acacacctcagc acaccgtgtc ttttacactgc gagagccacg gttttagcc cagagacatc	540
accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccggca aggtgggtct gacccggaa	660
gatgtgcaca gccaagtgtat ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcccttg	720
agaggaacccg ccaacactgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccaccctgga agtgacccag	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctaccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgttcaaga gccacgatct gaaggtgtca gccccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080

gcctgtccca gcccctgtt tcccgccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtgc	1140
ggagggcgtgc tggctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg cttcatcat ctttgggtc	1200
aagcggggca gaaaagaagct gctgtacatc ttcaaggcgc cttcatgct gcccgtgcag	1260
accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggccgctgc	1320
gagctg	1326
<210> 23	
<211> 1449	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic construct	
<400> 23	
atggAACCTG CCGGACCTGC TCTGGCAGA CTGGACCTC TGCTGTGCT GCTGCTGGCC	60
GCCTCTTGTG CTGGAGCGG AGTGGCTGGC GAAGAGGAAC TGCAAGTGT CCAGCCGAC	120
AAGAGCGTGC TGGTGGCCGC TGGCGAAACC GCCACCTGA GATGTACAGC CACCAGCCTG	180
atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggcgcgtggcc ctggcagaga gctgatctac	240
aaccagaaaag agggccactt ccccagagtg accaccgtgt ccgacactgac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatccg gatcgcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
tgcgtgaagt tccggaaagg cagcccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtgggtt ctggacactgc cgccagagct	480
acacccctcagc acaccgtgtc ttttacactgc gagagccacg gttcagccc cagagacatc	540
accctgaagt gttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcacccca aggtggtgct gaccgcgaa	660
gatgtgcaca gccaagtgtat ctgcgagggt gcccacgtga cactgcaggcg cgatccctgt	720
agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcggcc ccaccctgga agtgaccagg	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacactgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggctgc agctgacactg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccacg	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg	960
tccggccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gcccacatct gaaggtgtca gcccatacca aagagcagg ctccaaacaca	1080
gcctgtccca gcccctgtt tcccgccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtgc	1140

ggaggcgtgc tggctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ctttcatcat cttttggtc	1200
cgcagcaagg ggagcagagg cggccacagg gactacatga acatgacccc tagacggct	1260
ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctccc gggactttgc cgcctacaga	1320
agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac atctcaagg agccttcat gcggccctg	1380
cagaccaccc aggaagagga cggctgctcc tgcagattcc ccgaggaaga agaaggcggc	1440

tgcgagctg	1449
-----------	------

<210> 24

<211> 305

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200Rtm-CD28 protein

<400> 24

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50	55	60
----	----	----

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65	70	75	80
----	----	----	----

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85	90	95
----	----	----

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
-----	-----	-----

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130	135	140
-----	-----	-----

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145	150	155	160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala			
165	170	175	
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr			
180	185	190	
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val			
195	200	205	
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn			
210	215	220	
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser			
225	230	235	240
Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr			
245	250	255	
Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly			
260	265	270	
His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg			
275	280	285	
Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg			
290	295	300	
Ser			
305			
<210> 25			
<211> 243			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> huCD200R entire extracellular domain			
<400> 25			
Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu			
1	5	10	15
Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys			
20	25	30	

Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser  
 35 40 45  
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile  
 50 55 60  
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly  
 65 70 75 80  
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys  
 85 90 95  
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp  
 100 105 110  
 Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly  
 115 120 125  
 Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly  
 130 135 140  
 Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn  
 145 150 155 160  
 Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala  
 165 170 175  
 Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr  
 180 185 190  
 Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val  
 195 200 205  
 His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn  
 210 215 220  
 Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser  
 225 230 235 240  
 Ala Lys Leu  
 <210> 26  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>

<223> huCD200R transmembrane domain

<400> 26

Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly

1 5 10 15

Phe Ile Trp Leu Leu

20

<210> 27

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 transmembrane domain protein

<400> 27

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

1 5 10 15

Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

20 25

<210> 28

<211> 41

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 intracellular domain protein

<400> 28

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

1 5 10 15

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

20 25 30

Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

35 40

<210> 29

<211> 311

<212> PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-CD28tm protein

&lt;400&gt; 29

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr

180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

210 215 220

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser  
 225 230 235 240  
 Ala Lys Leu Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys  
 245 250 255  
 Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser  
 260 265 270  
 Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg  
 275 280 285  
 Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg  
 290 295 300  
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 305 310  
 <210> 30  
 <211> 314  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huCD200R-9aas-CD28Cys protein  
 <400> 30  
 Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu  
 1 5 10 15  
 Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys  
 20 25 30  
 Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser  
 35 40 45  
 Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile  
 50 55 60  
 Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly  
 65 70 75 80  
 Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys  
 85 90 95  
 Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100	105	110
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly		
115	120	125
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly		
130	135	140
Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn		
145	150	155
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala		
165	170	175
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr		
180	185	190
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val		
195	200	205
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn		
210	215	220
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe		
225	230	235
Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val		
245	250	255
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp		
260	265	270
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met		
275	280	285
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala		
290	295	300
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
305	310	
<210> 31		
<211> 234		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		

&lt;223&gt; huCD200R-9aas protein

&lt;400&gt; 31

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr

180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

210 215 220

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val

225 230

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; CD28Cys (extracellular portion) protein

&lt;400&gt; 32

Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro

1 5 10

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 311

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-12aas-CD28Cys protein

&lt;400&gt; 33

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr

180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

245 250 255

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

260 265 270

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

275 280 285

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

290 295 300

Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

305 310

<210> 34

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-12aas protein

<400> 34

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu

1	5	10	15
Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys			
20	25	30	
Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser			
35	40	45	
Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile			
50	55	60	
Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly			
65	70	75	80
Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys			
85	90	95	
Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp			
100	105	110	
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly			
115	120	125	
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly			
130	135	140	
Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn			
145	150	155	160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala			
165	170	175	
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr			
180	185	190	
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val			
195	200	205	
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn			
210	215	220	
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu			
225	230		
<210> 35			
<211> 315			
<212> PRT			

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic protein

&lt;400&gt; 35

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100 105 110

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

115 120 125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr

180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

210 215 220

Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe  
 225 230 235 240  
 Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val  
 245 250 255  
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp  
 260 265 270  
 Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe  
 275 280 285  
 Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg  
 290 295 300  
 Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu  
 305 310 315  
 <210> 36  
 <211> 42  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> 4-1BB intracellular component protein  
 <400> 36

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 Gly Gly Cys Glu Leu  
 35 40  
 <210> 37  
 <211> 312  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic protein  
 <400> 37

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

1	5	10	15
Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys			
20	25	30	
Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser			
35	40	45	
Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile			
50	55	60	
Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly			
65	70	75	80
Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys			
85	90	95	
Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp			
100	105	110	
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly			
115	120	125	
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly			
130	135	140	
Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn			
145	150	155	160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala			
165	170	175	
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr			
180	185	190	
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val			
195	200	205	
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn			
210	215	220	
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys			

245	250	255
Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Lys Arg		
260	265	270
Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro		
275	280	285
Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu		
290	295	300
Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu		
305	310	
<210> 38		
<211> 353		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic protein		
<400> 38		
Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu		
1	5	10
Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys		
20	25	30
Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser		
35	40	45
Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile		
50	55	60
Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly		
65	70	75
Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys		
85	90	95
Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp		
100	105	110
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly		
115	120	125

Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly

130 135 140

Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn

145 150 155 160

Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala

165 170 175

Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr

180 185 190

Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val

195 200 205

His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys

245 250 255

Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser

260 265 270

Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg

275 280 285

Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg

290 295 300

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

305 310 315 320

Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu

325 330 335

Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Cys Glu

340 345 350

Leu

<210> 39

<211> 435

<212> PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha tm-CD28 protein

&lt;400&gt; 39

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr

65 70 75 80

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

180 185 190

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

195 200 205

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

210 215 220

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu  
 225 230 235 240  
 Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr  
 260 265 270  
 Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu  
 275 280 285  
 Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu  
 290 295 300  
 Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val  
 305 310 315 320  
  
 Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His  
 340 345 350  
 Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn  
 355 360 365  
 Glu Arg Asn Ile Tyr Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val  
 370 375 380  
 Ala Leu Leu Met Ala Ala Leu Tyr Leu Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg  
 385 390 395 400  
 Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro  
 405 410 415  
 Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala  
 420 425 430  
 Tyr Arg Ser  
 435  
 <210> 40  
 <211> 373  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha entire extracellular domain protein

&lt;400&gt; 40

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1	5	10	15
Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu			
20	25	30	
Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly			
35	40	45	
Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly			
50	55	60	
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr			
65	70	75	80
Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu			
85	90	95	
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr			
100	105	110	
Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser			
115	120	125	
Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val			
130	135	140	
Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala			
145	150	155	160
Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser			
165	170	175	
Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser			
180	185	190	
Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser			
195	200	205	
Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser			
210	215	220	

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu  
 225 230 235 240  
 Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu  
 245 250 255  
 Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr  
 260 265 270  
 Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu  
 275 280 285  
 Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu  
 290 295 300  
 Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val  
 305 310 315 320  
 Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His  
 340 345 350  
 Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn  
 355 360 365  
  
 Glu Arg Asn Ile Tyr  
 370  
 <210> 41  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huSIRP alpha transmembrane domain protein  
 <400> 41  
 Ile Val Val Gly Val Val Cys Thr Leu Leu Val Ala Leu Leu Met Ala  
 1 5 10 15  
 Ala Leu Tyr Leu Val  
 20  
 <210> 42  
 <211> 441

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha -CD28tm protein

&lt;400&gt; 42

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1	5	10	15
Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu			
20	25	30	
Glu Leu Gln Val Ile Gln Pro Asp Lys Ser Val Leu Val Ala Ala Gly			
35	40	45	
Glu Thr Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ala Thr Ser Leu Ile Pro Val Gly			
50	55	60	
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr			
65	70	75	80
Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu			
85	90	95	
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr			
100	105	110	
Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser			
115	120	125	
Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val			
130	135	140	
Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala			
145	150	155	160
Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser			
165	170	175	
Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser			
180	185	190	
Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser			
195	200	205	
Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser			

210	215	220
Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu		
225	230	235
Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu		
245	250	255
Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr		
260	265	270
Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu		
275	280	285
Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu		
290	295	300
Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val		
305	310	315
Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp		
325	330	335
Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His		
340	345	350
Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Ala Glu Asn Thr Gly Ser Asn		
355	360	365
Glu Arg Asn Ile Tyr Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu		
370	375	380
Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val		
385	390	395
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr		
405	410	415
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro		
420	425	430
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
435	440	
<210> 43		
<211> 441		

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha-12aas-CD28Cys protein

&lt;400&gt; 43

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr

65 70 75 80

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

180 185 190

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

195 200 205

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

210	215	220
Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu		
225	230	235
Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu		
245	250	255
Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr		
260	265	270
Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu		
275	280	285
Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu		
290	295	300
Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val		
305	310	315
Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp		
325	330	335
Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His		
340	345	350
Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro		
355	360	365
Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu		
370	375	380
Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val		
385	390	395
Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr		
405	410	415
Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro		
420	425	430
Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
435	440	
<210> 44		
<211> 361		
<212> PRT		

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huSIRP alpha-12aas protein

&lt;400&gt; 44

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr

65 70 75 80

Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala

145 150 155 160

Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser

165 170 175

Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser

180 185 190

Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser

195 200 205

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

210 215 220

Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu

225 230 235 240

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

245 250 255

Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr

260 265 270

Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu

275 280 285

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

290 295 300

Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val

305 310 315 320

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp

325 330 335

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His

340 345 350

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala

355 360

<210> 45

<211> 442

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm-41BBic protein

<400> 45

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu

20 25 30

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

35 40 45

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

50	55	60
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr		
65	70	75
Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu		
85	90	95
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr		
100	105	110
Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser		
115	120	125
Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val		
130	135	140
Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala		
145	150	155
Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser		
165	170	175
Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser		
180	185	190
Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser		
195	200	205
Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser		
210	215	220
Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu		
225	230	235
Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu		
245	250	255
Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr		
260	265	270
Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu		
275	280	285
Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu		
290	295	300

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

355 360 365  
 Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu  
 370 375 380  
 Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val  
 385 390 395 400  
 Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met  
 405 410 415  
 Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe  
 420 425 430

Pro Glu Glu Glu Gly Cys Glu Leu

435 440

<210> 46

<211> 483

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic protein

<400> 46

Met Glu Pro Ala Gly Pro Ala Pro Gly Arg Leu Gly Pro Leu Leu Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Ala Ala Ser Cys Ala Trp Ser Gly Val Ala Gly Glu Glu  
 20 25 30

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

35 40 45

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

50	55	60
Pro Ile Gln Trp Phe Arg Gly Ala Gly Pro Gly Arg Glu Leu Ile Tyr		
65	70	75
Asn Gln Lys Glu Gly His Phe Pro Arg Val Thr Thr Val Ser Asp Leu		
85	90	95
Thr Lys Arg Asn Asn Met Asp Phe Ser Ile Arg Ile Gly Asn Ile Thr		
100	105	110
Pro Ala Asp Ala Gly Thr Tyr Tyr Cys Val Lys Phe Arg Lys Gly Ser		
115	120	125
Pro Asp Asp Val Glu Phe Lys Ser Gly Ala Gly Thr Glu Leu Ser Val		
130	135	140
Arg Ala Lys Pro Ser Ala Pro Val Val Ser Gly Pro Ala Ala Arg Ala		
145	150	155
Thr Pro Gln His Thr Val Ser Phe Thr Cys Glu Ser His Gly Phe Ser		
165	170	175
Pro Arg Asp Ile Thr Leu Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Ser		
180	185	190
Asp Phe Gln Thr Asn Val Asp Pro Val Gly Glu Ser Val Ser Tyr Ser		
195	200	205
Ile His Ser Thr Ala Lys Val Val Leu Thr Arg Glu Asp Val His Ser		
210	215	220
Gln Val Ile Cys Glu Val Ala His Val Thr Leu Gln Gly Asp Pro Leu		
225	230	235
Arg Gly Thr Ala Asn Leu Ser Glu Thr Ile Arg Val Pro Pro Thr Leu		
245	250	255
Glu Val Thr Gln Gln Pro Val Arg Ala Glu Asn Gln Val Asn Val Thr		
260	265	270
Cys Gln Val Arg Lys Phe Tyr Pro Gln Arg Leu Gln Leu Thr Trp Leu		
275	280	285
Glu Asn Gly Asn Val Ser Arg Thr Glu Thr Ala Ser Thr Val Thr Glu		
290	295	300
Asn Lys Asp Gly Thr Tyr Asn Trp Met Ser Trp Leu Leu Val Asn Val		

305 310 315 320

Ser Ala His Arg Asp Asp Val Lys Leu Thr Cys Gln Val Glu His Asp

325 330 335

Gly Gln Pro Ala Val Ser Lys Ser His Asp Leu Lys Val Ser Ala His

340 345 350

Pro Lys Glu Gln Gly Ser Asn Thr Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro

355 360 365

Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu

370 375 380

Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val

385 390 395 400

Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr

405 410 415

Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro

420 425 430

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

435 440 445

Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln

450 455 460

Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly

465 470 475 480

Cys Glu Leu

<210> 47

<211> 900

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200Rtm-CD28

<400> 47

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tcatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggcagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcg cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
aactacgatc tgcaggtgt ggtcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga	480
agcggcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgcccggc agatctcttgc ggcctgac	540
ggcactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc	600
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggccggaaacc agtccctgag gcccatac	720
ccttacatca tcggcggcat catcatcctg atcatcatcg gctgcatctg cctgctgaac	780
agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgaccccg aaggcctggc	840
ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgcccggc agtccctgac ctacagac	900
<210> 48	
<211> 918	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> muCD200R-CD28tm	
<400> 48	
atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgtgc tgcgttgggg agtgtttgtg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgtc gtgcgtttc	180
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggcagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcg cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
aactacgatc tgcaggtgt ggtcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga	480
agcggcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgcccggc agatctcttgc ggcctgac	540
ggcactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc	600
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggccggaaacc agtccctgag gcccattctgg	720

gccctggtgg tggtgccgg cgtgctgtt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg	780
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcgcc agagcgacta catgaacatg	840
accccccagaa ggcctggct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	900
ttcggccct acagacct	918

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 945

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD200R-CD28Cys

&lt;400&gt; 49

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tcatctgggg agtgttttg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacacgac cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgcgtttc	180
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggcagcac cccagaccac agccctgagc tgacatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgcacc ccgaggcata cttcgagaag	420

aactacgatc tgcaggtgct ggtcccccc gaagtgcacct acttccccga gaagaataga	480
agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctggccccc agatctttg gagccctgac	540
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgcaccgt gggagcacc	600
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtctgca tcgtgtccc cctgaccggc	660
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctgccc	720
acccagagca gccccaaagct gttctggcc ctgggtgg tggccggcgt gctgtttgt	780
tacggctgc tcgtgcaccgt ggccctgtgc gtgcgtggc ccaacacgac aagaaacaga	840

ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggccgtac cagaaagccc	900
taccagcctt acgccccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct	945

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 936

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD200R-3aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 50

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc t	tgatctgggg agtgtttgtg	60
ccggcagca gcgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag	cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtcag atcggcacca aggcctgct	gtgctgttcc	180
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag	aggcctgccc	240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggcagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
aactacgatc tgcagggtct ggtgcccccc gaagtgaccc acttccccga gaagaataga	480
agcgcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccc agatctcttg gagccctgac	540
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcgaggcacc	600
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgcca caccagagc	720
agcccaagc tttctggc cctgggtgtg gtggccggcg tgctgttttgc ttacggctg	780
ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggccggcag	840
agcgactaca tgaacatgac cccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct	900
tacccccctg ccagagactt cgccgcctac agacct	936

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 918

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD200R-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 51

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc t	tgatctgggg agtgtttgtg	60
---	-----------------------	----

ccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtcag atcggcacca aggcctgct	180
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggccctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggcagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420

aactacgatc tgcaagggtct ggtgcacccccc gaagtgaccc acttccccga gaagaataga	480
agcggcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctggccccc agatctcttg gagccctgac	540
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc	600
tgtcaactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660
aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacacccaga gcagcccaa gctttctgg	720
gccctgggtgg tggggccgg cgtgctgtt tggtaacggcc tgctcgtgac cgtggccctg	780
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	840
accccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacccccc tgccagagac	900
ttcgccgcct acagacact	918
<210> 52	
<211> 939	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> muCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic	
<400> 52	
atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tggatctgggg agtgttttg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacacgac cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca agggccctgct gtgctgtttc	180
agcatccctc tgaccaaggc tggatctgatc acctggatca tcaagctgag aggccctggcc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300
aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcaaatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc cggaggccaa cttcgagaag	420
aactacgatc tgcaagggtct ggtgcacccccc gaagtgaccc acttccccga gaagaataga	480
agcggcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctggccccc agatctcttg gagccctgac	540
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc	600
tgtcaactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660
aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacacccaga gcagcccaa gctttctgg	720
gccctgggtgg tggggccgg cgtgctgtt tggtaacggcc tgctcgtgac cgtggccctg	780
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agacacatg catttcaag	840
cagcccttca agaaaaccac cggcgctgcc caggaagagg acgcctgcag ctgttagatgc	900

cctcaggaag aagaaggcgg	cggaggcggc tacgagctg	939
<210> 53		
<211> 1062		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> muCD200R-9aas-CD28Cys tm ic-41BBic		
<400> 53		
atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tcatctgggg agtgtttgtg	60	
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120	
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgtgtttc	180	
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240	
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300	
aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360	
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgcaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420	
aactacgatc tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgcacct acttccccga gaagaataga	480	
agcggcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgcccggc agatctcttg gagccctgac	540	
ggcgaactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgcacgt gcggagcacc	600	
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccc cctgaccggc	660	
aaccagagcc tgagcatgca gtcgactgc cacacccaga gcagcccaa gctgttctgg	720	
gccctggtgg tggtgccgg cgtgctgtt tggtaacggcc tgctcgatc cgtggccctg	780	
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	840	
accccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	900	
ttcgccgcct acagacctag cgtgctgaag tggatcagaa agaagtccc ccacatttc	960	
aagcagccct tcaagaaaac caccggcgt gcccaggaag aggacgcctg cagctgtaga	1020	
tgcctcagg aagaagaagg cggcggaggc ggctacgagc tg	1062	
<210> 54		
<211> 1305		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> muSIRP alpha tm-CD28		

&lt;400&gt; 54

atggAACCTG CTGGACCTGC CCCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGCTGTG CCTGCTGCTG	60
AGC GCCAGCT GTT CTGTAC CGGCCACCC GGC AAAGAAC TGAAGTGA CCA GCCCAG	120
AAG TCCGTG CTG TGGCCGC TGGCGACAGC ACC GTGCTGA ACT GTACCC GACCAGCTG	180
CTGCCGTGG GCCCCATCAG ATGGTATAGA GGC GTGGGCC CTAGCAGACT GCTGATCTAC	240

AGCTTCGCTG GCGAGTACGT GCCCAGAAC AGAAACGTGT CCGACACCCAC CAAGCGAAC	300
AACATGGACT TCAGCATCAG GATCAGCAAC GTGACCCCTG CCGACGCCGG CATCTACTAC	360
TGCGTGAAGT TCCAGAAGGG CAGCAGCGAG CCCGACACCG AGATTCACTG TGCGGCCGA	420
ACCGAGGTG ACT GTGCTGC TAAGCCCAGC CCTCCGTAGG TGTCCGCC TGCTGATAGA	480
GGCATCCCCG ACCAGAAAGT GAAC TCA CACA TGCAAGAGCC ACGGCTTCAG CCCCAGAAC	540
ATCACCCCTGA AGTGGTTCAA GGACGGCCAG GAACTGCACC CCTGGAAAC CACCGTGAAC	600
CCCAAGCGGCA AGAACGTGTC CTACAACATC AGTCCACCG TGCGGGTGGT GCTGAACAGC	660

ATGGACGTGA ACAGCAAAGT GATCTGCGAG GTGGCCACA TCA CACTGGA CAGAACCCCC	720
CTGAGAGGAA TCGCCAACCT GAGCAACTC ATCAGAGTGT CCCCACCGT GAAAGTGACA	780
CAGCAGAGCC CCACCAGCAT GAACCAAGTG AACCTGACCT GCAGAGCCGA GAGATTCTAC	840
CCCGAGGACC TGCAGCTGAT CTGGCTGGAA AACGGCAACG TGTCCAGAAA CGACACCCCC	900
AAGAACCTGA CAAAGAACAC CGACGGCACC TACAACTACA CCTCCCTGTT TCTCGTGAAC	960
TCCTCCGCC ACCCGAGGAA CGTGGTGTTC ACGTGCCAAG TGAAGCACGA CCAGCAGCCC	1020
GCCATCACCA GAAACCACAC AGTGTGGC TTGCCCCACA GCAGCGACCA GGGCAGCATG	1080

CAGACCTTCC CGACAACAA CGCCACCCAC AACTGGAAACG TGTTCATCGG CGTGGCGTG	1140
GCCTGTGCTC TGCTGGTGGT GCTGCTGATG GCGCCCTGT ATAACAGCAG AAGAACAGA	1200
GGCGGCCAGA GCGACTACAT GAACATGACC CCCAGAAGGC CTGGCCTGAC CAGAAAGCCC	1260
TACCACTTAC CGCCCTGC CAGAGACTC CGCCTACAC GACCT	1305

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 1323

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muSIRP alpha-CD28tm

&lt;400&gt; 55

ATGGAACCTG CTGGACCTGC CCCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGCTGTG CCTGCTGCTG	60
---	----

agcggccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180  
 ctgcccgtgg gccccatcg atggtataga ggcgtggcc ctagcagact gctgatctac 240  
 agcttcgctg gcgagtagt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggAAC 300  
 aacatggact tcagcatcg gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccc catctactac 360  
 tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcggA 420  
 accgagggtgt acgtgctggc taagcccAGC cctccgtgagg tgcggccccc tgctgataga 480  
 ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac 540

atcacccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600  
 cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccc tgccgggtgg gctgaacagc 660  
 atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggccaca tcacactgga cagaagcccc 720  
 ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca 780  
 cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagt aacctgaccc gcagagccga gagattctac 840  
 cccgaggacc tgcagctgtat ctggctggaa aacggcaacg tgccagaaa cgacaccccc 900  
 aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgccc accgcgagga cgtgggttac acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020  
 gccatcacca gaaaccacac agtgctggc ttgcggccaca gcagcgaacca gggcagcatg 1080  
 cagacccctcc ccgacaacaa cggccacccac aactggaact tctggccct ggtgggtgt 1140  
 gccggcgtgc ttgtttgtta cggcctgttc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc 1200  
 aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgaccc cagaaggcct 1260  
 ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 1320  
 cct 1323

<210> 56

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muSIRP alpha-CD28cys

<400> 56

atggAACCTG ctggacACTG ccctggcaga ctgggaccc tcgtgtgtg cctgtgtg 60  
 agcggccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccgag 120

aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
ctgcccgtgg gccccatcgat atggatataga ggcgtggcc ctagcagact gctgatctac	240
agcttcgctg gcgagtagt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatcgat gatcagcaac gtgaccctg ccgacccgg catctactac	360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacacccg agattcagtc tggcggcggA	420
accgagggtgt acgtgctggc taagcccagc ctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccagaaac	540
atcacccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccc tgccgggtgt gctgaacagc	660
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagttt ccccaaccgt gaaagtgaca	780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagt aacctgaccc gcagagccga gagattctac	840
cccgaggacc tgcatgtat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cttccctgtt tctcgtgaac	960
tcctccggcc acccgcgagga cgtgggtttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
gccatcacca gaaaccacac agtgcgtggc ttgcggcaca gcagcggacca gggcagcatg	1080
cagaccttcc ccgacaacaa cggccacccac aactggaaact gccacaccca gagcagcccc	1140
aagctgttctt gggctctgggtt ggtgggtggcc ggcgtgtgtt tttgttacgg cctgctcgtt	1200

accgtggccc tgtgcgtat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac	1260
tacatgaaca tgaccccccag aaggcctggc ctgaccggaa agccttacca gccttacgcc	1320
cctggccagag acttcggcgc ctacagaccc	1350

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 1332

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muSIRP alpha -6aas-CD28cys

&lt;400&gt; 57

atggaacctg ctggacactgc ccctggcaga ctgggaccc tcgtgcgtgt cctgcgtgt	60
agcggccagct gtttcgtac cggcgccacc ggcaaagaac taaaatgtac ccagcccgag	120
aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180

ctgcccgtgg gccccatcag atggatataga ggcgtggcc ctagcagact gctgatctac	240
agcttcgctg gcgagtagct gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggAAC	300
aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg ccgacccgg catctactac	360
tgcgtaagt tccagaaggg cagcagcgg cccgacaccg agattcagtc tggccggGA	420
accgagggtgt acgtgctggc taagcccAGC cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
ggcatcccc accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcAG ccccagaaac	540
atcaccctga agtggttcaa ggacggccAG gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600

cccagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgccgggtgt gctgaacAGC	660
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgg gtggccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca	780
cagcaggAGC ccaccaggcat gaaccaagtg aacctgaccc gcagagccGA gagattctac	840
cccgaggacc tgcagctgtat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
tcctccgccc accgcgagga cgtgggttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020

gccatcacca gaaaccacac agtgctggc ttgcggcaca gcagcggacca gggcagcatg	1080
cagacccccc ccgacaacaa ctgccacacc cagagcggcc ccaagctgtt ctgggtctg	1140
gtgggtgtgg cccgcgtgt gtttggttac ggcctgctcg tgaccgtggc cctgtgcgtg	1200
atctggacca acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc	1260
agaaggcctg gcctgaccccg gaaggcttac cagccttacg cccctggccAG agacttcGCC	1320
gcctacagac ct	1332

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 1323

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muSIRP alpha -9aas-CD28cys

&lt;400&gt; 58

atggAACCTG ctggacctgc ccctggcaga ctgggaccc tcgtgctgtg cctgctgtg	60
agcGCCAGCT gtttctgtac cggcgccacc ggcaaaAGAAC tggaaagtgac ccagccccAG	120
aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacAGC accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
ctgcccgtgg gccccatcag atggatataga ggcgtggcc ctagcagact gctgatctac	240
agcttcgctg gcgagtagct gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggAAC	300

aacatggact tcagcatcgat gatcagcaac gtgaccctg ccgacgccgg catctactac	360
tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggccgggaa	420
accgagggt acgtgctggc taagcccagc cctccgtagg tgcggccc tgctgataga	480
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac	540
atcaccctga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
cccagccgca agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggttgt gctgaacagc	660
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca	780
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagatctac	840
cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
aagaacctga caaaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
tcctccgccc accgcgagga cgtgggttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
gccatcacca gaaaccacac agtgctggc ttgcggccaca gcagcgaacca gggcagcatg	1080
cagacccctcc cctgccacac ccagagcagc cccaaagctgt tctggctct ggtgggttgt	1140
gccggcgtgc tgggggtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc	1200
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	1260
ggccctgaccc ggaaggctta ccagccttac gcccctgcga gagacttcgc cgcctacaga	1320
cct	1323
<210> 59	
<211> 1281	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> muSIRP alpha-23aas-CD28cys	
<400> 59	
atggAACCTG CTGGACCTGC CCCTGGCAGA CTGGGACCTC TGCTGCTGTG CCTGCTGCTG	60
AGCGCCAGCT GTTCTGTAC CGGGGCCACC GGCAAAGAAC TGAAGATGAC CCAGCCCGAG	120
AAGTCCGTGT CTGTGGCCGC TGGCGACAGC ACCGTGCTGA ACTGTACCCt GACCAGCCTG	180
CTGCCCGTGG GCCCCATCAG ATGGTATAGA GGCCTGGGCC CTAGCAGACT GCTGATCTAC	240
AGCTTCGCTG GCGAGTACGT GCCCAGAAATC AGAAACGTGT CCAGACACCAC CAAGCGGAAC	300
AACATGGACT TCAGCATCGAT GATCAGCAAC GTGACCCTG CCAGACGCCGG CATCTACTAC	360

tgctgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccc agattcagtc tggccggcga	420
accgagggtgt acgtgctggc taagcccagc cctccctgagg tgcggccccc tgctgataga	480
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag ccccaagaaac	540
atcacccitga agtggttcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
cccaagcggca agaacgtgtc ctacaacatc agtccaccc tgccgggtggt gctgaacagc	660

atggacgtga acagcaaagt gatctgctgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt ccccaaccgt gaaagtgaca	780
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgaccc gcagagccga gagattctac	840
cccgaggacc tgcagctgtat ctggctggaa aacggcaacg tgcggccaaa cgacaccccc	900
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
tcctccgccc accgcgagga cgtgggttcc acgtgccaag tgaaggcacga ccagcagccc	1020
gccccatcacca gaaaccacac agtgcgtggc tgccacaccc agagcagccc caagctgttc	1080

tgggctctgg tgggtggc cggcgtgtcg tttgttacg gcctgctcg t gaccgtggcc	1140
ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac	1200
atgaccccca gaaggcctgg cctgacccgg aagcattacc agcattacgc ccctgccaga	1260
gacttcgccc cctacagacc t	1281

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 137

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD-1 ectodomain

&lt;400&gt; 60

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

1 5 10 15

Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg

115 120 125

Ser Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val

130 135

<210> 61

<211> 627

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2 entire extracellular domain

<400> 61

atgagcttc catgtaaatt tgtagccagc ttcctctga tttcaatgt ttcttccaaa 60

ggtgcatgtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattccatg tttcaaatg agtgatgata ttgacgatataaaaatggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcaaaaaag agaaagagac ttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatataat gataaaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaacca agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcacatcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgc当地 tcaagtgcac agcaggaaac aaagtgc当地 aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggac 627

<210> 62

<211> 209

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

&lt;223&gt; huCD2 entire extracellular domain

&lt;400&gt; 62

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe

35 40 45

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp

50 55 60

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu

65 70 75 80

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His

85 90 95

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

100 105 110

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu

115 120 125

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu

130 135 140

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln

145 150 155 160

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu

195 200 205

Asp

&lt;210&gt; 63

&lt;211&gt; 78

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD2 transmembrane domain

&lt;400&gt; 63

atctatctca tcattggcat atgtggagga ggcagcctct tcatggctt tgtggcactg	60
ctcgtttct atatcacc	78

&lt;210&gt; 64

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD2 transmembrane domain

&lt;400&gt; 64

Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Gly Ser Leu Leu Met Val

1 5 10 15

Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr

20 25

&lt;210&gt; 65

&lt;211&gt; 828

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD2tm-CD28 DNA

&lt;400&gt; 65

atgagcttc catgtaaatt tgtagccagc ttccctctga tttcaatgt ttcttccaaa	60
ggtcagtc ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac	120

atcaacttgg acattcttag tttcaatg agtgatgata ttgacgatataaaaatggaa	180
aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttccagaaaaag agaaagagac tttcaaggaa	240
aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaaa ttaagcatct gaagaccgat	300
gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gataaaaaaa gaaaaaatgt gttggaaaaa	360
atatttattt gtaagattca agagagggtc tcaaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc	420
aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaataaa cctgtatcaa	480

gatggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcacacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgc当地tcaagtgc当地c agcaggaaac aaagt当地cagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtc当地ctgtc cagagaaagg tctggacatc tatctcatca ttggcatatg tggaggaggc 660

agc当地cttga tgg当地ttgt ggc当地ctgctc gtttctata tcacccgc当地caagc当地ggagc 720

agaggc当地ggcc acagc当地gacta catgaacatg acccctagac ggc当地ctggcc caccagaaag 780

cactaccagc cctacgcccc tccccggac tttgccct acagaagc 828

<210> 66

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2tm-CD28

<400> 66

Met Ser Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe

35 40 45

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp

50 55 60

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu

65 70 75 80

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His

85 90 95

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

100 105 110

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu

115 120 125

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu

130 135 140

Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln

145 150 155 160

Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu

195 200 205

Asp Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly Gly Ser Leu Leu Met

210 215 220

Val Phe Val Ala Leu Leu Val Phe Tyr Ile Thr Arg Ser Lys Arg Ser

225 230 235 240

Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly

245 250 255

Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala

260 265 270

Ala Tyr Arg Ser

275

<210> 67

<211> 831

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2-CD28tm

<400>

> 67

atgagcttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga tttcaatgt ttcttccaaa 60

ggtgcgactt ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag tttcaaatg agtcatgata ttgacgatataaaaatggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcatggaaag agaaagagac tttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatataat gataaaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480  
 gatggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcacacac acaagtggac caccagcctg 540  
 agtgc当地 tcaagtgcac agcaggaaac aaagttagca aggaatccag tgtcgagcct 600  
 gtcagctgtc cagagaaagg tctggactc tgggtgctgg tgggtgctgg aggctgtc 660  
 gcctgctaca gcctgctggt caccgtggcc ttcatcatct tttgggtccg cagcaagcgg 720  
 agcagaggcg gccacagcga ctacatgaac atgacccta gacggcctgg cccaccaga 780  
 aagcactacc agccctacgc ccctccccgg gacttgccg cctacagaag c 831

<210> 68

<211> 277

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2-CD28tm

<400> 68

Met Ser Phe Pro Cys Lys Phe Val Ala Ser Phe Leu Leu Ile Phe Asn

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Trp Gly Ala Leu Gly Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ile Pro Ser Phe

35 40 45

Gln Met Ser Asp Asp Ile Asp Asp Ile Lys Trp Glu Lys Thr Ser Asp

50 55 60

Lys Lys Lys Ile Ala Gln Phe Arg Lys Glu Lys Glu Thr Phe Lys Glu

65 70 75 80

Lys Asp Thr Tyr Lys Leu Phe Lys Asn Gly Thr Leu Lys Ile Lys His

85 90 95

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

100 105 110

Lys Gly Lys Asn Val Leu Glu Lys Ile Phe Asp Leu Lys Ile Gln Glu

115 120 125

Arg Val Ser Lys Pro Lys Ile Ser Trp Thr Cys Ile Asn Thr Thr Leu  
 130 135 140  
 Thr Cys Glu Val Met Asn Gly Thr Asp Pro Glu Leu Asn Leu Tyr Gln  
 145 150 155 160  
 Asp Gly Lys His Leu Lys Leu Ser Gln Arg Val Ile Thr His Lys Trp  
 165 170 175  
 Thr Thr Ser Leu Ser Ala Lys Phe Lys Cys Thr Ala Gly Asn Lys Val  
 180 185 190  
 Ser Lys Glu Ser Ser Val Glu Pro Val Ser Cys Pro Glu Lys Gly Leu  
 195 200 205  
 Asp Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser  
 210 215 220  
 Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg  
 225 230 235 240  
 Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro  
 245 250 255  
 Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe  
 260 265 270  
 Ala Ala Tyr Arg Ser  
 275  
 <210> 69  
 <211> 969  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huCD200R-CD28Cys  
 <400> 69

atgctgtgcc	ctggagaac	cgcacacctg	ggcctgctgc	tgatcctgac	catttcttg	60
gtggccgcca	gcagcagcct	gtgcatggac	gagaaggaga	tcacccagaa	ctacagcaag	120
gtgctggccg	aagtgaacac	cagctggccc	gtgaagatgg	ccaccaacgc	cgtgctgtgc	180
tgcctctta	tcgcctgcg	gaacctgatc	atcatcacct	gggagatcat	cctgcggggc	240
cagcccagct	gtaccaaggc	ctaccggaaa	gagacaaacg	agacaaaaga	aacaaactgc	300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccggtggcca tcacccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgaccccg aagtgaccct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgcgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccccc gatctctgg	540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccacg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc	720

gccaagctgt gtcccagccc tctgtttccc ggccctagca agccttctg ggtgctggtg	780
gtggtcggag gctgtctggc ctgctacagc ctgctggtca ccgtggcctt catcatctt	840
tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc cacagcgact acatgaacat gaccctaga	900
cggcctggcc ccaccagaaa gcactaccag ccctacgccc ctccccgggaa ctttgcgc	960
tacagaagc	969

&lt;210&gt; 70

&lt;211&gt; 323

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huCD200R-CD28Cys

&lt;400&gt; 70

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu

1 5 10 15

Thr Ile Phe Leu Val Ala Ala Ser Ser Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys

20 25 30

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

35 40 45

Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile

50 55 60

Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly

65 70 75 80

Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys

85 90 95

Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp

100	105	110	
Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Ala Ile Thr His Asp Gly			
115	120	125	
Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro Asp Gly Asn Phe His Arg Gly			
130	135	140	
Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn			
145	150	155	160
Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala			
165	170	175	
Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr			
180	185	190	
Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr Cys His Trp Glu Val			
195	200	205	
His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His Leu Thr Gly Asn			
210	215	220	
Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser			
225	230	235	240
Ala Lys Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe			
245	250	255	
Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu			
260	265	270	
Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg			
275	280	285	
Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro			
290	295	300	
Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala			
305	310	315	320
Tyr Arg Ser			
<210> 71			
<211> 519			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFas entire extracellular domain

&lt;400&gt; 71

atgcgtggca tctggaccct gctgcctctg gtgcgtacaa gcgtggccag actgagcagc	60
aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctgaaact gagaaagacc	120
gtgaccaccg tggaaaccca gAACCTGGAA ggcctgcacc acgacggcca gttctgcac	180

aagccttgc cccctggcga gcggaaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300
tgccggcgt gcagactgtg tggatgaggc cacggctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggaCCcaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaCTtct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480
tccaaacacaa agtgcacaa ggaaggcagc agaagcaac	519

&lt;210&gt; 72

&lt;211&gt; 173

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFas entire extracellular domain

&lt;400&gt; 72

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100	105	110
Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg		
115	120	125
Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp		

130	135	140
Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr		
145	150	155
Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn		
165	170	

&lt;210&gt; 73

&lt;211&gt; 498

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFas extracellular domain -7aas

&lt;400&gt; 73

atgcgtggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc	60
aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac	180
aagccttgtc cccctggcga gggaaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300
tgcggcggt gcagactgtg tcatgagggc cacggctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaattct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcaactgca acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480
tccaacacaa agtgcaaa	498

&lt;210&gt; 74

&lt;211&gt; 166

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFas extracellular domain -7aas

&lt;400&gt; 74

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115 120 125

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

130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145 150 155 160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys

165

<210> 75

<211> 483

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFas extracellular domain -12aas

<400> 75

atgctggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgccaaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccacccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300
tgccggcggt gcagactgtg tcatgaggcc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaacttct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcaactgac acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480
tcc	483

&lt;210&gt; 76

&lt;211&gt; 161

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFas extracellular domain -12aas

&lt;400&gt; 76

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115 120 125

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

130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145	150	155	160	
Ser				
<210> 77				
<211> 51				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> huFas transmembrane domain				
<400> 77				
ctggcgtggc tggcctcct gctgctgccc atccctctga tcgtgtgggt c			51	
<210> 78				
<211> 17				
<212> PRT				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
>				
<223> huFas transmembrane domain				
<400> 78				
Leu Gly Trp Leu Cys Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp				
1	5	10	15	
Val				
<210> 79				
<211> 693				
<212> DNA				
<213> Artificial Sequence				
<220>				
<223> huFAStm-CD28				
<400> 79				
atgctggca tctggaccct gtcgcctcg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc	60			
aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120			
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac	180			
aagccttgtc cccctggcga gcggaaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240			
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300			
tgccggcggt gcagactgtg tcatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc	360			

cggaacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420  
 gagcactgctgacccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtgcacc 480  
 tccaaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaacc tgggctggct gtgcctcctg 540  
 ctgctgcca tccctctgat cgtgtggtc cgccagcaagg ggagcagagg cggccacagc 600

gactacatga acatgacccc tagacggct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 660  
 gcccctcccc gggactttgc cgccctacaga agc 693

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 231

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFAStm-CD28

&lt;400&gt; 80

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115 120 125

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

130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145	150	155	160
Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Leu Gly Trp			
165	170	175	
Leu Cys Leu Leu Leu Pro Ile Pro Leu Ile Val Trp Val Arg Ser			
180	185	190	
Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg			
195	200	205	
Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg			
210	215	220	
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser			
225	230		
<210> 81			
<211> 723			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> huFAS-CD28tm			
<400> 81			
atgctggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60			
aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120			
gtgaccaccc tgaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac 180			
aagccttgc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240			
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300			
tgccggcggt gcagactgtg tcatgaggcc cacggctgg aagtggaaat caactgcacc 360			
cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaattct tctgcaacag caccgtgtgc 420			
gagcactgctg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480			
tccaaacacaa agtgcacaa ggaaggcagc agaagcaact tctgggtgct ggtgggtgc 540			
ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ctttcatcat ctttgggtc 600			
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggct 660			
ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720			
agc 723			
<210> 82			

&lt;211&gt; 241

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFAS-CD28tm

&lt;400&gt; 82

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115 120 125

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

130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145 150 155 160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Phe Trp Val

165 170 175

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

180 185 190

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly

195 200 205

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg

210 215 220

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

225 230 235 240

Ser

<210> 83

<211> 759

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAS-CD28Cys

<400> 83

atgctggca tctggaccct	gctgcctctg	gtgctgacaa	gcgtggccag	actgagcagc	60
aagagcgtga acgccaagt	gaccgacatc	aacagcaagg	gcctggaact	gagaaagacc	120
gtgaccaccg	tggaaaccca	gaacctggaa	ggcctgcacc	acgacggcca	180
aagccttgtc	cccctggcga	gccaaggcc	agagactgta	ctgtgaacgg	240

gactgcgtgc	cctgtcagga	aggcaaagag	tacaccgaca	aggcccactt	cagcagcaag	300
tgccggcggt	gcagactgtg	tgtatgaggc	cacggcctgg	aagtggaaat	caactgcacc	360
cggaccaga	acaccaagtg	cagatgcaag	cccaacttct	tctgcaacag	caccgtgtgc	420
gagcactgcg	accctgtac	caagtgcgaa	cacggcatca	tcaaagagtg	caccctgacc	480
tccaaaccaa	agtgcaaaga	ggaaggcagc	agaaggcaact	gtcccgccc	tctgtttccc	540
ggccctagca	agccttctg	ggtgctggtg	gtggcggag	gcgtgctggc	ctgctacagc	600
ctgctggtca	ccgtggcctt	catcatctt	tgggtccgca	gcaagcggag	cagaggcggc	660

cacagcgact	acatgaacat	gaccctaga	cggcctggcc	ccaccagaaa	gcactaccag	720
ccctacgccc	ctccccggga	cttgcgcgc	tacagaagc			759

<210> 84

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAS-CD28Cys

<400> 84

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala  
 1 5 10 15  
 Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser  
 20 25 30  
 Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Val Glu Thr Gln Asn  
 35 40 45  
 Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro  
 50 55 60  
 Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro  
 65 70 75 80  
 Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His  
 85 90 95  
 Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly  
 100 105 110  
  
 Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg  
 115 120 125  
 Cys Lys Pro Asn Phe Phe Cys Asn Ser Thr Val Cys Glu His Cys Asp  
 130 135 140  
 Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Ser Asn Thr Lys Cys Lys Glu Glu Gly Ser Arg Ser Asn Cys Pro Ser  
 165 170 175  
 Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val  
 180 185 190  
 Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile  
 195 200 205  
 Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr  
 210 215 220  
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln  
 225 230 235 240  
 Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

245

250

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 738

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFAS-7aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 85

atgcgtggca tctggaccct gctgcctctg gtgcgtacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgcccagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gAACCTGGAA ggcctgcacc acgacggcca gttctgcac 180

aagccttgc cccctggcga gcggaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300

tgccggcggt gcagactgtg tcatgaggc cacggctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cgggaccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaattct tctgcaacag caccgtgtc 420

gagcactgctg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaaacacaa atgcacaaatg tcccagccct ctgtttcccg gccttagcaa gccttctgg 540

gtgctgggtgg tggtcggagg cgtgctggcc tgctacagcc tgctggtcac cgtggccttc 600

atcatctttt gggcccgag caagcggagc agaggcggcc acagcggacta catgaacatg 660

acccttagac ggcctggccc caccagaaag cactaccagc cttacggccc tccccggac 720

tttgcgcctt acagaagc 738

&lt;210&gt; 86

&lt;211&gt; 246

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huFAS-7aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 86

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1

5

10

15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20

25

30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65 70 75 80

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85 90 95

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100 105 110

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115 120 125

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

130 135 140

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145 150 155 160

Ser Asn Thr Lys Cys Lys Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser

165 170 175

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

180 185 190

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

195 200 205

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

210 215 220

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

225 230 235 240

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

245

<210> 87

<211> 723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; FAS-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 87

atgcgtggca tcgtggacct gctgcctctg gtgcgtacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120
gtgaccaccc tgaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac	180
aagccttgc cccctggcga gcggaaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300
tgccggcgt gcagactgtg tggatgaggc cacggctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggacccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaaattct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcactgctg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480

tcctgtccca gcccctgtt tcccgccctt agcaaggcctt tctgggtgct ggtgggtgtc	540
ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgtcg gtcaccgtgg ctttcatcat ctttgggtc	600
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggct	660
ggcccccacca gaaagcacta ccagccctac gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga	720
agc	723

&lt;210&gt; 88

&lt;211&gt; 241

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; FAS-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 88

Met Leu Gly Ile Trp Thr Leu Leu Pro Leu Val Leu Thr Ser Val Ala

1 5 10 15

Arg Leu Ser Ser Lys Ser Val Asn Ala Gln Val Thr Asp Ile Asn Ser

20 25 30

Lys Gly Leu Glu Leu Arg Lys Thr Val Thr Val Glu Thr Gln Asn

35 40 45

Leu Glu Gly Leu His His Asp Gly Gln Phe Cys His Lys Pro Cys Pro

50 55 60

Pro Gly Glu Arg Lys Ala Arg Asp Cys Thr Val Asn Gly Asp Glu Pro

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Cys Val Pro Cys Gln Glu Gly Lys Glu Tyr Thr Asp Lys Ala His

85	90	95
----	----	----

Phe Ser Ser Lys Cys Arg Arg Cys Arg Leu Cys Asp Glu Gly His Gly

100	105	110
-----	-----	-----

Leu Glu Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Thr Gln Asn Thr Lys Cys Arg

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Pro Cys Thr Lys Cys Glu His Gly Ile Ile Lys Glu Cys Thr Leu Thr

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ser Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly

195	200	205
-----	-----	-----

His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg

210	215	220
-----	-----	-----

Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

225	230	235	240
-----	-----	-----	-----

Ser

<210> 89

<211> 510

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 entire extracellular domain 2

<400> 89

atgcagatcc	ctcaggcccc	ttggcctg	gtgtggct	tgcgcagct	gggatggcgg	60
------------	------------	----------	----------	-----------	------------	----

cctggctgg	ttctggacag	ccccgacaga	ccctggaa	ccctacatt	ttccctgg	120
-----------	------------	------------	----------	-----------	----------	-----

ctgctggctg	tgaccgaggg	cgacaatg	ccacctcac	gtagcttc	caacaccagg	180
------------	------------	----------	-----------	----------	------------	-----

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gcctccccg aggatagatc tcagccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

ccaaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggccca gacggaacga cagggcaca 360

tatctgtgcg ggcgcattcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aaggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480

agacctgccc gccagttcca gacactggc 510

<210> 90

<211> 170

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 entire extracellular domain 2

<400> 90

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val

130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro

145 150 155 160

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val

165 170

<210> 91

<211> 474

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -12aas

<400> 91

atgcagatcc ctcaaggcccc ttggcctgtc gtgtggcgtg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctgggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaaacc cccctacatt ttcccctgcc 120

ctgctggctcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcaccc ttagcttcag caacaccaggc 180

gagagcttcg tgcgtgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttcccg aggatagatc tcagccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgctg ggcgcattcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aaggccgaa gtgcctaccg cccaccctag ccca 474

<210> 92

<211> 158

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -12aas

<400> 92

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val  
 50 55 60  
 Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala  
 65 70 75 80  
 Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg  
 85 90 95  
 Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg  
 100 105 110  
 Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val  
 130 135 140  
 Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro  
 145 150 155

&lt;210&gt; 93

&lt;211&gt; 465

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1 2 -15aas

&lt;400&gt; 93

atgcagatcc cttagcccc ttggcctgtc gtgtggctg tgctgcagct gggatggcgg	60
cctggctgg ttcggacag cccgacaga ccctggaaacc cccctacatt ttccctggcc	120
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc acttcacct gtagcttcag caacaccaggc	180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc	240
gccttccccg aggatagatc tcagccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg	300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacgca cagcggcaca	360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc	420
gagctgagag tgaccgagag aaggccgaa gtgcctaccg cccac	465

&lt;210&gt; 94

&lt;211&gt; 155

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1 2 -15aas

&lt;400&gt; 94

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val

130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His

145 150 155

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 447

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1 2 -21aas

&lt;400&gt; 95

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttacact gtagcttcag caacaccaggc 180  
 gagagcttcg tgcgtgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240  
 gcctccccg aggatagatc tcagcccgcc caggactgcc ggttcagagt gaccaggctg 300  
 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggAACGA cagcggcaca 360  
 tatctgtgcg ggcgcattcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420  
 gagctgagag tgaccgagag aaggccc 447

<210> 96

<211> 149

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -21aas

<400> 96

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val

130	135	140	
Thr Glu Arg Arg Ala			
145			
<210> 97			
<211> 750			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> huPD1-CD28Cys			
<400> 97			
atgcagatcc ctacggcccc ttggcctgtc gtgtggctg tgctgcagct gggatggcgg			60
cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaaacc cccctacatt ttcccctgcc			120
ctgctggctcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttacact gtagcttcag caacaccaggc			180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc			240
gccttcccg aggatagatc tcagcccgcc caggactgcc ggttcagagt gaccctagctg			300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggccca gacggaacga cagcggcaca			360
tatctgtcg ggcgcattcag cctggcccc aaggcccaaga tcaaagagag cctgagagcc			420
gagctgagag tgaccgagag aaggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca			480
agacctgccc gccagttcca gacactggtc tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc			540
aagccttct gggtgctggt ggtggctgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc			600
accgtggct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac			660
tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc			720
cctcccccggg acttgcgc ctacagaagg			750
<210> 98			
<211> 250			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> huPD1-CD28Cys			
<400> 98			
Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln			
1	5	10	15
Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp			

20	25	30
Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp		
35	40	45
Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val		
50	55	60
Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala		
65	70	75
Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg		
85	90	95
Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg		
100	105	110
Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu		
115                    120                    125		
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val		
130	135	140
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro		
145	150	155
Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Cys Pro Ser Pro Leu Phe		
165	170	175
Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val		
180	185	190
Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp		
195	200	205
Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met		
210	215	220
Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala		
225	230	235
Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
245	250	
<210> 99		
<211> 714		
<212> DNA		

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 99

atgcagatcc	ctcaggcccc	ttggcctgtc	gtgtggctg	tgctgcagct	gggatggcgg	60
cctggctgg	ttctggacag	ccccgacaga	ccctggaacc	ccctacatt	ttccctgcc	120
ctgctggtcg	tgaccgaggg	cgacaatgcc	acttcacct	gtagcttcag	caacaccagg	180
gagagcttcg	tgcgaactg	gtacagaatg	agccccagca	accagaccga	caagctggcc	240
gccttcccg	aggatagatc	tcagccggc	caggactgcc	ggttcagagt	gaccaggctg	300
cccaacggcc	gggacttcca	catgtctgtc	gtgcgggcca	gacggaacga	cagcggcaca	360
tatctgtgcg	gcccacatcg	cctggcccc	aaggccaga	tcaaagagag	cctgagagcc	420

gagctgagag	tgaccgagag	aaggccgaa	gtgcctaccg	cccacctag	cccatgtccc	480
agccctctgt	ttcccgcccc	tagcaagcct	ttctgggtgc	tggtggtggt	cggaggcgtg	540
ctggcctgtc	acagcctgct	ggtcaccgtg	gccttcatca	tctttgggt	ccgcagcaag	600
cggagcagag	gcccacacag	cgactacatg	aacatgaccc	ctagacggcc	tggccccacc	660
agaaagca	accagcccta	cggccctccc	cgggactttg	ccgcctacag	aagc	714

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 238

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 100

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50 55 60

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85	90	95
----	----	----

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
-----	-----	-----

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val

130	135	140
-----	-----	-----

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Cys Pro

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp

195	200	205
-----	-----	-----

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

210	215	220
-----	-----	-----

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

225	230	235
-----	-----	-----

<210> 101

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1-15aas-CD28Cys

<400> 101

atgcagatcc	ctcaggcccc	ttggcctgtc	gtgtggctg	tgcgcagct	gggatggcgg	60
------------	------------	------------	-----------	-----------	------------	----

cctggctgg	ttctggacag	ccccgacaga	ccctggaacc	ccctacatt	ttccctgcc	120
-----------	------------	------------	------------	-----------	-----------	-----

ctgctggctcg	tgaccgaggg	cgacaatgcc	acttcacct	gtagcttcag	caacaccagc	180
-------------	------------	------------	-----------	------------	------------	-----

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gcctccccg aggatagatc tcagccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300  
 cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcggccca gacggaacga cagggcaca 360  
 tatctgtgcg ggcgcattcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420  
 gagctgagag tgaccgagag aaggccgaa gtgcctaccg cccactgtcc cagccctctg 480  
 tttccggcc ctagcaagcc ttctgggtg ctgggtgg tcggaggcgt gctggcctgc 540  
 tacagcctgc tggtcaccgt ggccttcatc atctttggg tccgcagcaa gcggagcaga 600  
 ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggcccccac cagaaagcac 660

taccagccct acgeccctcc ccgggacttt gccgcctaca gaagc 705

<210> 102

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1-15aas-CD28Cys

<400> 102

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85	90	95
----	----	----

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125	
Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val			
130	135	140	
Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Cys Pro Ser Pro Leu			
145	150	155	160
Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly			
165	170	175	
Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe			
180	185	190	

Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly His Ser Asp Tyr Met Asn		
195	200	205

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

210	215	220
Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser		
225	230	235

&lt;210&gt; 103

&lt;211&gt; 687

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huPD1-21aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 103

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctgg ttcggacag cccggacaga ccctggacc cccctacatt ttccctgcc	120
ctgctggctcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagg	180
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc	240
gccttccccg aggatagatc tcagcccgcc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg	300
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca	360
tatctgtgcg ggcgcattcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc	420
gagctgagag tgaccgagag aaggccctgt cccagccctc tggccggcc ccctagcaag	480

cctttctggg tgctggctgg ggtcgaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc	540
gtggccttca tcatcttttg ggtccgcagc aagcggagca gaggcggcca cagcgcatac	600

atgaacatga cccctagacg gcctggcccc accagaaagc actaccagcc ctacgcccct 660  
 ccccgaaact ttgccccta cagaagc 687  
 <210> 104  
 <211> 229  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huPD1-21aas-CD28Cys  
 <400> 104

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln  
 1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp

20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp  
 35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val  
 50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala  
 65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg

85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg  
 100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu  
 115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val  
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys  
 145 150 155 160

Pro Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser  
 165 170 175

Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg

180	185	190
Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro		
195	200	205
Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe		
210	215	220
Ala Ala Tyr Arg Ser		
225		

&lt;210&gt; 105

&lt;211&gt; 810

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD2tm-CD28

&lt;400&gt; 105

atgaagtgca agttcctggg ctcattttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc	60
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctggcc acggcatcac cctgaacatc	120
cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcaag aggcacactg	180
gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttccctgatca gcgagacata cgaggtgctg	240
gcccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac	300
gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc	360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt	420
gctgtgtgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac	480
tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc	540
gaggccatca acccggtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag	600
ggcctgagct tctacgtgac agtggcggt ggagctggcg gactgctgct ggtgctgctg	660
gtggccctgt tcatcttctg catctgcaac agcagacgga acagaggcgg ccagagcgtac	720
tacatgaaca tgacccctg aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc	780

cctgccagag acttcggcgc ctacagaccc	810
----------------------------------	-----

&lt;210&gt; 106

&lt;211&gt; 270

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD2tm-CD28

&lt;400&gt; 106

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser

1 5 10 15

Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu

20 25 30

Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp

35 40 45

Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe

50 55 60

Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu

65 70 75 80

Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser

85 90 95

Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu

100 105 110

Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met

115 120 125

Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala

165 170 175

Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ile Phe Cys Ile Cys Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp

225 230 235 240  
 Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr  
 245 250 255  
 Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

260 265 270

<210> 107

<211> 813

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28tm

<400> 107

atgaagt gca agttcctggg ctcattttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc	60
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc	120
cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggacacactg	180
gtggcccgagt tcaagagaaa gaagccccc ttccctgatca gcgagacata cgaggtgctg	240
gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac	300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc	360
ctggaaaggg tgcataagcc catgatccac tggagtgcc ccaacaccac cctgaccgtt	420
gctgtgtgc agggcacca cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgtgaac	480
tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc	540
gaggccatca acccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag	600
ggcctgagct tctggccct ggtgggtggt gccggcgtgc tggcctgctc	660
gtgaccgtgg cccctgtgcgt gatctggacc aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc	720

gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac	780
gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga ccc	813

<210> 108

<211> 271

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28tm

&lt;400&gt; 108

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser  
 1 5 10 15  
 Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu  
 20 25 30  
 Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp  
 35 40 45  
 Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe  
 50 55 60  
 Lys Arg Lys Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu  
 65 70 75 80  
 Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser  
 85 90 95  
 Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu  
 100 105 110  
  
 Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met  
 115 120 125  
 Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln  
 130 135 140  
 Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala  
 165 170 175  
 Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met  
 180 185 190  
 Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Phe Trp Ala Leu Val  
 195 200 205  
 Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala  
 210 215 220  
 Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser  
 225 230 235 240  
 Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro

245 250 255

Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

260 265 270

&lt;210&gt; 109

&lt;211&gt; 840

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD2-CD28Cys

&lt;400&gt; 109

atgaagtgca agttcctggg ctcattttc ctgctgttca gcctgagcgg caaggggcgcc	60
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc	120
cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcaag aggacacactg	180
gtggccgagt tcaagagaaa gaagcccca ttccctgatca gcgagacata cgaggtgctg	240

gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac	300
gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc	360
ctggaaaggg tgcctcaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt	420
gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac	480
tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc	540
gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag	600
ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggt ggtggtgcc	660

ggcgtgctgt ttgttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac	720
agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgcac tacatgaaca tgacccccc aaggccctggc	780
ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcggcgc ctacagacct	840

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 280

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD2-CD28Cys

&lt;400&gt; 110

Met Lys Cys Lys Phe Leu Gly Ser Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Ser

1	5	10	15
Gly Lys Gly Ala Asp Cys Arg Asp Asn Glu Thr Ile Trp Gly Val Leu			
20	25	30	
Gly His Gly Ile Thr Leu Asn Ile Pro Asn Phe Gln Met Thr Asp Asp			
35	40	45	
Ile Asp Glu Val Arg Trp Val Arg Arg Gly Thr Leu Val Ala Glu Phe			
50	55	60	
Lys Arg Lys Pro Pro Phe Leu Ile Ser Glu Thr Tyr Glu Val Leu			
65	70	75	80
Ala Asn Gly Ser Leu Lys Ile Lys Lys Pro Met Met Arg Asn Asp Ser			
85	90	95	
Gly Thr Tyr Asn Val Met Val Tyr Gly Thr Asn Gly Met Thr Arg Leu			
100	105	110	
Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met			
115	120	125	
Ile His Trp Glu Cys Pro Asn Thr Thr Leu Thr Cys Ala Val Leu Gln			
130	135	140	
Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn			
145	150	155	160
Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala			
165	170	175	
Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met			
180	185	190	
Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser			
195	200	205	
Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Ala Gly Val Leu Phe			
210	215	220	
Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn			
225	230	235	240
Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro			
245	250	255	

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

260 265 270

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

275 280

<210> 111

<211> 861

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28Cys-41BBic

<400> 111

atgaagtgca agttcctggg ctcattttc ctgctgtca gcctgagcgg caagggcgcc	60
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctggcc acggcatcac cctgaacatc	120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaaag aggcacactg	180
gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccca ttccctgatca gcgagacata cgagggtgctg	240
gccaacggca gcctgaagat caagaaaccc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac	300
gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc	360
ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt	420
gctgtgctgc agggcacccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac	480
tccctgcccc agaaaaacat gagtaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc	540

gaggccatca accccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag	600
ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctgggt ggtggtgcc	660
ggcgtgctgt ttgttacgg cctgctcgta accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccagc	720
gtgctgaagt ggatcagaaa gaagttcccc cacatttca agcagccctt caagaaaacc	780
accggcgctg cccaggaaga ggacgcctgc agctgtagat gccctcagga agaagaaggc	840
ggcggaggcg gctacgagct g	861

<210> 112

<211> 287

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28Cys-41BBic

&lt;400&gt; 112

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

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

130 135 140  
 Gly Thr Asp Phe Glu Leu Lys Leu Tyr Gln Gly Glu Thr Leu Leu Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Leu Pro Gln Lys Asn Met Ser Tyr Gln Trp Thr Asn Leu Asn Ala  
 165 170 175  
 Pro Phe Lys Cys Glu Ala Ile Asn Pro Val Ser Lys Glu Ser Lys Met  
 180 185 190  
 Glu Val Val Asn Cys Pro Glu Lys Gly Leu Ser Cys His Thr Gln Ser  
 195 200 205

Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Ala Gly Val Leu Phe  
 210 215 220  
 Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Ser  
 225 230 235 240  
 Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro

245 250 255  
 Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys  
 260 265 270  
 Arg Cys Pro Gln Glu Glu Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu

275 280 285  
 <210> 113  
 <211> 1080  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB  
 <400> 113  
 atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60  
 gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120  
 acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca agggccctgct gtgctgttgc 180  
 agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggccctgccc 240  
 agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga 300  
 aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360  
 ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420  
 aactacgatc tgcaggtgct ggtcccccc gaagtgaccc acttccccga gaagaataga 480  
 agcgcgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgcccggc agatctcttgc gagccctgac 540  
 ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcgaggcacc 600  
 tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660  
 aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgcca cacccagagc 720  
 agcccaagc tttctggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttgc ttacggcctg 780  
 ctcggtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag 840  
 agcgactaca tgaacatgac cccagaagg cctggctga ccagaaagcc ctaccagcct 900  
 tacggccctg ccagagactt cgccgcctac agacctagcg tgctgaagtgc gatcagaag 960  
 aagtcccccc acatcttcaa gcagcccttc aagaaaacca ccggcgctgc ccaggaagag 1020  
 gacgcctgca gctgttagatg ccctcaggaa gaagaaggcg gcgaggcgg ctacgagctg 1080  
 <210> 114  
 <211> 360

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB

&lt;400&gt; 114

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp

1 5 10 15

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr

20 25 30

Gln Asn Asn Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser

35 40 45

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu

50 55 60

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro

65 70 75 80

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser

85 90 95

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn

180 185 190

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val

195 200 205

Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu  
 210 215 220  
 Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Cys His Thr Gln Ser  
 225 230 235 240  
 Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe  
 245 250 255  
 Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn  
 260 265 270  
 Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro  
 275 280 285  
 Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala  
 290 295 300  
 Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys  
 305 310 315 320  
 Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala  
 325 330 335  
 Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu  
 340 345 350

Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu

355 360

<210> 115

<211> 966

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB

<400> 115

atgttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tcatctgggg agtgttgt	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgtgtttc	180
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgatc acctggatca tcaagctgag aggctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctggcaga	300

aacatcacct	gggccagcac	cccagaccac	agccctgagc	tgagatcag	cggcgtgaca	360
ctgcagcacg	aggcaccta	cacatgcgag	acagtgaccc	ccgaggcga	cttcgagaag	420
aactacgatc	tgaggtgct	ggtgcccccc	gaagtgacct	acttccccga	gaagaataga	480
agcggcgtgt	gaggccat	ggctggcaaa	cctgccc	agatctctig	gagccctgac	540
ggcgactgtg	tgaccaccag	cgagagccac	agcaacggca	cagtgaccgt	gcggagcacc	600
tgtcaactggg	agcagaacaa	cgtgtccgac	gtgtctgca	tcgtgtccca	cctgaccggc	660
aaccagagcc	tgagcatcga	gctgagcaga	ggcgaaacc	agtccctgag	gccctgccac	720

acccagagca	gccccaaagct	gttctggcc	ctgggtgg	tggccggcgt	gctgtttgt	780
tacggctgc	tctgaccgt	ggccctgtgc	gtgatctgga	ccagcgtgt	gaagtggatc	840
agaaagaagt	tccccacat	cttcaagcag	cccttcaaga	aaaccaccgg	cgctgcccag	900
gaagaggacg	cctgcagctg	tagatgcct	caggaagaag	aaggcggcgg	aggcggctac	960
gagctg						966

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 322

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB

&lt;400&gt; 116

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp

1 5 10 15

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr

20 25 30

Gln Asn Asn Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser

35 40 45

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu

50 55 60

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro

65 70 75 80

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser

85 90 95

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro

100	105	110
Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr		
115	120	125
Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr Asp Leu		
130	135	140
Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg		
145	150	155
Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser		
165	170	175
Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn		
180	185	190
Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val		
195	200	205
Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu		
210	215	220
Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Leu Arg Pro Cys His		
225	230	235
Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly		
245	250	255
Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile		
260	265	270
Trp Thr Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe		
275	280	285
Lys Gln Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala		
290	295	300
Cys Ser Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Gly Gly Gly Tyr		
305	310	315
Glu Leu		
<210> 117		
<211> 681		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muFas tm-CD28

&lt;400&gt; 117

atgcgtgga tcgtggccgt	gtgcgcctcg	gtgcgtggctg	gatcacagct	gagagtgac	60	
acccaggggca	ccaacagcat	cagcgagagc	ctgaagctga	gaagaagagt	gchgagaca	120
gacaagaact	gcagcgaggg	cctgtaccag	ggcggaccct	tctgctgtca	gccttgcag	180

cccgcaaga	aaaagggtgga	agattgcaag	atgaacggcg	gcaccctac	ctgcgcccct	240
tgtacagagg	gcaaagagta	catggacaag	aaccactacg	ccgacaagtg	cagacggtgc	300
accctgtcg	acgaggaaca	cggcctggaa	gtggaaacaa	actgcacccct	gaccaggAAC	360
accaagtgca	agtgcacaaacc	cgacttctac	tgcgacagcc	ccggctgcga	gcactgcgtc	420
agatgtgcct	cttgcgagca	cggcaccctg	gaacattgta	ccggcaccag	caacaccaac	480
tgcggaaagc	agagccccag	aaacagactg	tggctgctga	ccatcctggt	gctgctgatc	540
ccctgtgtt	tcatctacaa	cagcagaaga	aacagaggcg	gccagagcga	ctacatgaac	600

atgaccccca	gaaggcctgg	cctgaccaga	aagccctacc	agccttacgc	ccctgccaga	660
gacttcggcg	cctacagacc	t				681

&lt;210&gt; 118

&lt;211&gt; 227

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muFas tm-CD28

&lt;400&gt; 118

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

1 5 10 15

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

20 25 30

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

35 40 45

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys

50 55 60

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro

65 70 75 80

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys

85 90 95

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu

100 105 110

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp

115 120 125

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser

130 135 140

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn

145 150 155 160

Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Leu Trp Leu Leu Thr Ile Leu

165 170 175

Val Leu Leu Ile Pro Leu Val Phe Ile Tyr Asn Ser Arg Arg Asn Arg

180 185 190

Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu

195 200 205

Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala

210 215 220

Tyr Arg Pro

225

<210> 119

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-CD28tm

<400> 119

atgctgtgga tctggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccaggcga ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgcac 180

cccgcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacgggtgc 300

accctgtcg acgaggaaca cggcctgaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac	360
accaagtgc agtcaaaacc cgacttctac tgcgacagcc cggctgcga gcactgcgtc	420
agatgtgcct ctgcgagca cggcaccctg gaaccttgc caacaccaac	480
tgccgaaagc agagccccag aaacagattc tggccctgg tgggtggc cggcgatcg	540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga	600
aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgacccca gaaggcctgg cctgaccaga	660
aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccc cttacagacc t	711

&lt;210&gt; 120

&lt;211&gt; 237

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muFas-CD28tm

&lt;400&gt; 120

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

1 5 10 15

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

20 25 30

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

35 40 45

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys

50 55 60

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro

65 70 75 80

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys

85 90 95

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu

100 105 110

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Lys Pro Asp

115 120 125

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser

130 135 140

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn  
 145 150 155 160  
 Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Phe Trp Ala Leu Val Val Val  
 165 170 175  
 Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys  
 180 185 190  
 Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr  
 195 200 205  
 Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln  
 210 215 220  
 Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro  
 225 230 235

&lt;210&gt; 121

&lt;211&gt; 738

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muFas-CD28Cys

&lt;400&gt; 121

atgctgtgga tctggccgt gtcgcctcg gtgctggctg gatcacagct gagagtgac	60
acccaggcaca acaacagcat cagcgagacg ctgaagctga gaagaagagt ggcgcagaca	120
gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgcag	180
cccgccaaga aaaaagggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgcct	240
tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc	300
accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcacccct gaccagaac	360

accaagtgca agtgcaaaacc cgacttctac tgcgcacagcc cggctgcga gcactgcgtc	420
agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttcta cggccaccag caacaccaac	480
tgcggaaagc agagccccag aaacagatgc cacacccaga gcagccccaa gctgttctgg	540
gccctggtgg tggtgccgg cgtgctgtt tggtaacggcc tgcgtgcac cgtggccctg	600
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	660
accccccagaa ggcctggct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	720

ttcgccgcct acagacct

738

&lt;210&gt; 122

&lt;211&gt; 246

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muFas-CD28Cys

&lt;400&gt; 122

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

1 5 10 15

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

20 25 30

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

35 40 45

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys

50 55 60

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro

65 70 75 80

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys

85 90 95

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu

100 105 110

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Pro Asp

115 120 125

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser

130 135 140

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn

145 150 155 160

Cys Arg Lys Gln Ser Pro Arg Asn Arg Cys His Thr Gln Ser Ser Pro

165 170 175

Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr

180 185 190

Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg

195 200 205

Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

245

<210> 123

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-9aas-CD28Cys

<400> 123

atgctgtgga tctggccgt gtcgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

acccaggcaca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt ggcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggccggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccgcaaga aaaagggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccctac ctgcgcccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc 300

accctgtgca acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcacccct gaccagaac 360

accaagtgca atgcaaaacc cgacttctac tgcgacagcc cggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct ctgcgagca cggcaccctg gaaccttgcata cggccaccag caacaccaac 480

tgccacacccc agagcagccc caagctgttc tggccctgg tggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgacccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aaggccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgcgcg cctacagacc t 711

<210> 124

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

&lt;223&gt; muFas-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 124

Met Leu Trp Ile Trp Ala Val Leu Pro Leu Val Leu Ala Gly Ser Gln

1 5 10 15

Leu Arg Val His Thr Gln Gly Thr Asn Ser Ile Ser Glu Ser Leu Lys

20 25 30

Leu Arg Arg Arg Val Arg Glu Thr Asp Lys Asn Cys Ser Glu Gly Leu

35 40 45

Tyr Gln Gly Gly Pro Phe Cys Cys Gln Pro Cys Gln Pro Gly Lys Lys

50 55 60

Lys Val Glu Asp Cys Lys Met Asn Gly Gly Thr Pro Thr Cys Ala Pro

65 70 75 80

Cys Thr Glu Gly Lys Glu Tyr Met Asp Lys Asn His Tyr Ala Asp Lys

85 90 95

Cys Arg Arg Cys Thr Leu Cys Asp Glu Glu His Gly Leu Glu Val Glu

100 105 110

Thr Asn Cys Thr Leu Thr Gln Asn Thr Lys Cys Lys Cys Pro Asp

115 120 125

Phe Tyr Cys Asp Ser Pro Gly Cys Glu His Cys Val Arg Cys Ala Ser

130 135 140

Cys Glu His Gly Thr Leu Glu Pro Cys Thr Ala Thr Ser Asn Thr Asn

145 150 155 160

Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val

165 170 175

Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys

180 185 190

Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr

195 200 205

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

210 215 220

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

225	230	235	
<210> 125			
<211> 693			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> muPD1tm-CD28			
<400> 125			
atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtttc acctggcgtg tgctgcagct gagctggcag			60
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct			120
tggctgaccc tgctctgaggg cgccaaacgcc accttcaccc ttagccctgag caattggagc			180
gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc			240
gccttctgca acggccgtgc tcagccctgtc caggacgcca gattccagat catccagctg			300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc	360
tacctgtgcg gcgccatcg cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc	420
gagctggtcg tgaccgagag aatccctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct	480
aagcccgagg gcagattca gggcatggtc atcggcatca tgagcgcct cgtggcatac	540
ccagttgtgc tgctgtggc ctggccctg aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc	600
gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggctgacca gaaaggcccta ccagccttac	660
gccccctgcaca gagacttcgc cgccctacaga cct	693

<210> 126  
<211> 231  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> muPD1tm-CD28  
<400> 126

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met

50	55	60
Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala		
65	70	75
Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln		
85	90	95
Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp		
100	105	110
Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu		
115	120	125
His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val		
130	135	140
Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro		
145	150	155
Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Val Ile Gly Ile Met Ser Ala		
165	170	175
Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Asn Ser		
180	185	190
Arg Arg Asn Arg Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg		
195	200	205
Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg		
210	215	220
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro		
225	230	
<210> 127		
<211> 711		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> muPD1-CD28tm		
<400> 127		
atgtgggtgc gacaggtgcc ctggctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60		

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgaccc tt ctacccgct	120
tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttaccc t gtagcctgag caattggagc	180

gaggacctga tgctgaaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaaggcaggcc	240
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg	300
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc	360
tacctgtcg gcgccatcg cctgcaccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc	420
gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gatacccccag ccccagccct	480
aagcccgagg gcagattca gggcatgttc tggccctgg tggtggtggc cggcgtgctg	540
ttttgttacg gcctgctcg t gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga	600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgacccca gaaggcctgg cctgaccaga	660
aagccctacc agcattacgc ccctgccaga gacttcgccc cctacagacc t	711

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 237

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muPD1-CD28tm

&lt;400&gt; 128

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met

50 55 60

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp

100	105	110	
Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu			
115	120	125	
His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val			
130	135	140	
Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro			
145	150	155	160
Lys Pro Glu Gly Arg Phe Gln Gly Met Phe Trp Ala Leu Val Val Val			
165	170	175	
Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys			
180	185	190	
Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr			
195	200	205	
Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln			
210	215	220	
Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro			
225	230	235	
<210> 129			
<211> 738			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> muPD1-CD28Cys			
<400> 129			
atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtcttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag		60	
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct		120	
tggctgaccg tgcgtgaggg cgccaaacgcc accttcaccc ttagcctgag caattggagc		180	
gaggacactga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc		240	
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtc caggacgcca gattccagat catccagctg		300	
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc		360	
tacctgtgct ggcgcaccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc		420	

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

aagcccgagg gcagatttca gggcatgtgc cacaccaga gcagcccaa gctgttctgg 540  
 gctctggtgg tggtgccgg cgtctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 600  
 tgcgtgatct ggaccaacag cagacggaac agaggcggcc agagcgacta catgaatatg 660  
 acccccagaa ggcctggct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 720  
 ttccggcct acagacct 738

<210> 130

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muPD1-CD28Cys

<400> 130

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

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

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

Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr

180 185 190

Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg

195 200 205

Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

245

<210> 131

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muPD1-9aas-CD28Cys

<400> 131

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgcgtggaaatg gcctaacggc cttggagaa gcctgacacctt ctacccgct 120

tggctgaccg tgcgtggagg cgccaaacgcc accttcaccc tgcgtggagg caattggaggc 180

gaggacctga tgcgtggagg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtc caggacgcc gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg ggcgcgttc cctgcacccc aaggccaaatc tcgaggaatc tcctggcc 420

gagctggcgc tgaccgagag aatccctggaa acctccacca gatacccccag ccccgccct 480

tgccacaccc agaggcgtcc caagctgttc tggctctgg tggctggc cggcgtgtc 540

ttttgttacg gcctgctgtc gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagacgg 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaat atgacccca gaaggcctgg cctgaccaga 660  
 aagccctacc agcctacgc ccctgccaga gacttcgcccg cctacagacc t 711  
 <210> 132  
 <211> 237  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> muPD1-9aas-CD28Cys  
 <400> 132  
 Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp  
 20 25 30  
 Arg Ser Leu Thr Phe Tyr Pro Ala Trp Leu Thr Val Ser Glu Gly Ala  
 35 40 45  
 Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met  
 50 55 60  
 Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala  
 65 70 75 80  
 Ala Phe Cys Asn Gly Leu Ser Gln Pro Val Gln Asp Ala Arg Phe Gln  
 85 90 95  
 Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp  
 100 105 110  
 Thr Arg Arg Asn Asp Ser Gly Ile Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu  
 115 120 125  
 His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val  
 130 135 140  
 Thr Glu Arg Ile Leu Glu Thr Ser Thr Arg Tyr Pro Ser Pro Ser Pro  
 145 150 155 160  
 Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val  
 165 170 175  
 Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys

180	185	190
Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr		
195	200	205
Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln		
210	215	220
Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro		
225	230	235
<210> 133		
<211> 675		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muPD1-21aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 133

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggtttc acctggctg tgctcagct gagctggcag	60
tctggctggc tgcggaaatg gcctaaccgc cttggagaa gcctgaccc tt ctaccccgct	120
tggctgaccg tgcgtgggg cgccaaacgcc accttaccc tgcgtggag caattggagc	180
gaggacactga tgcgtggactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc	240
gccttctgca acggctgtc tgcgtggactg caggacccca gattccagat catccagctg	300
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagccgcattc	360
tacctgtgcg gcgcattcag cctgcaccc aaggccaaga tcgagaaatc tcctggcgcc	420

gagctggctcg tgaccgagag aatctgccac acccagagca gccccaaatgt gttctggct	480
ctggctggctgg tggccggcgt gctgtttgt tacggctgc tgcgtggactg gcccctgtgc	540
gtgatctgga ccaacagcag acgaaacaga ggcggccaga ggcactacat gaatatgacc	600
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagccgcattc	660
gccgcctaca gacct	675

&lt;210&gt; 134

&lt;211&gt; 225

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muPD1-21aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 134

Met Trp Val Arg Gln Val Pro Trp Ser Phe Thr Trp Ala Val Leu Gln

1 5 10 15

Leu Ser Trp Gln Ser Gly Trp Leu Leu Glu Val Pro Asn Gly Pro Trp

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Leu Ser Asn Trp Ser Glu Asp Leu Met

50 55 60

Leu Asn Trp Asn Arg Leu Ser Pro Ser Asn Gln Thr Glu Lys Gln Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Ile Gln Leu Pro Asn Arg His Asp Phe His Met Asn Ile Leu Asp

100 105 110

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

115 120 125

His Pro Lys Ala Lys Ile Glu Glu Ser Pro Gly Ala Glu Leu Val Val

130 135 140

Thr Glu Arg Ile Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala

145 150 155 160

Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr

165 170 175

Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly

180 185 190

Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg

195 200 205

Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg

210 215 220

Pro

225

<210> 135

&lt;211&gt; 1512

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3tm-CD28

&lt;400&gt; 135

atgagagagg acctgctgct gggcttctg ctgctggac tgctgtggg ggcctgtg	60
gtgtcatctg gccctggcaa agaactgcc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg	120
catctgcct gcagcctgaa gtccccaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc	180
gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagcccacac ctatccctgc cctggatctg	240
caccaggcga tcgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg	300
gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctacgtgca gctgaaagag	360
aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggg ctgcctgag aacagatgcc	420
ggcgagtacc acgctaccgt gcggtgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg	480
agagtggcc aggcagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg	540
gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgcgtgcctt ctgggtccag	600
ggacagaaca gagtgcccggt gtacaacagc cccagacact tccctggccga gacattctg	660
ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg	720
gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaagggtc tggcctggaa acccgtggct	780
cctctgacag tgtacgcgcg cgagggcagc agagtggaaac tgccttgtca tctgccaccc	840
ggcggtggca caccttctct gctgatgcctt aagtggaccc ctccaggcgg aggacactgaa	900
ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct	960
caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcaggccc agcagctgaa cgccaccgtg	1020
acactggccg tggatcaccgt gaccccaag agcttggcc tgcctggctc cagaggcaag	1080
ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tgcgtggcg gcctctgaac	1140
aacctgagca gatctgcgc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc	1200
gagcggtggc agtgcacgt gtatgaggga cagcgactgc tggcggccac tgtgtacgt	1260
gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gggcgatct gaagggcggc	1320
cacctgggtgc tggtgctgat cctggcgct ctgagctgt tccctgtgtt ggctggcgct	1380
ttcggttta acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc	1440
agaaggcctg gcctgaccag aaagccctac cagccttacg cccctggccag agacttcggcc	1500
gcctacagac ct	1512

&lt;210&gt; 136

&lt;211&gt; 504

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3tm-CD28

&lt;400&gt; 136

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Gly Leu Leu Trp

1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

35 40 45

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

50 55 60

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

65 70 75 80

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

85 90 95

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

100 105 110

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

115 120 125

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His

130 135 140

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu

145 150 155 160

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

165 170 175

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

180 185 190

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr

195

200

205

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln

210

215

220

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

225 230 235 240

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

245

250

255

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

260

265

270

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu

275

280

285

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

290

295

300

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala

305 310 315 320

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg

370

375

380

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

385 390 395 400

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala

405

410

415

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg

420

425

430

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Val Leu Val Leu Ile Leu

435

440

445

Gly Ala Leu Ser Leu Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Phe Gly Phe Asn

450 455 460

Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

465 470 475 480

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

485 490 495

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

500

<210> 137

<211> 1530

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-CD28tm

<400> 137

atgagagagg acctgctgct gggcttctg ctgctggac tgctgtggga ggccctgtg	60
gtgtcatctg gccctggcaa agaactgcc gtcgtgtggg cttaggaagg cgctccctgtg	120
catctgcctt gcagcctgaa gtccccaaac ctggacccca acttccttag aagaggcggc	180
gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg	240
caccaggcga tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgtg	300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag	360
aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgccttag aacagatgcc	420
ggcgagtacc acgctaccgt gcggtgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg	480
agagtgggcc aggccagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg	540
tgctgtctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag	600
ggacagaaca gagtgcccggt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg	660
ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg	720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaagggtgc tggccctgga acccggtggct	780
cctctgacag tgcacgcgc cgagggcagc agagtggAAC tgccttgta tctgccaccc	840
ggcgtggca cacttctt gctgatgcctt aagtggaccc ctccaggcgg aggacactgaa	900
ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaaggcgt gggcctggct	960
caggccggca cttacacccctg tagcatccat ctgcaggccc agcagctgaa cgccaccgtg	1020

acactggccg tgcacccgt gaccccaag agcttgcc tgcctggctc cagaggcaag	1080
ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaagat tcgtgtggcg gcctctgaac	1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc	1200
gagcggtggc agtgcagct gtatgaggga cagcgcactgc tggcgccac tgtgtacgct	1260
gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgc agaagaatca gcggcgatct gaaggcgcc	1320
cacctttct gggccctggg ggtggtggcc ggcgtgctgt ttgttacgg cctgctcg	1380
accgtggccc tgtgcgtat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgc	1440
tacatgaaca tgaccccaag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgc	1500
cctgccagag acttcgcgc ctacagacct	1530

&lt;210&gt; 138

&lt;211&gt; 510

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3-CD28tm

&lt;400&gt; 138

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

35 40 45

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

50 55 60

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

65 70 75 80

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

85 90 95

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

100 105 110

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

115

120

125

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His

130

135

140

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu

145 150 155 160

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

165

170

175

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

180

185

190

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr

195

200

205

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Pro Gln

210

215

220

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

225 230 235 240

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

245

250

255

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

260

265

270

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu

275

280

285

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

290

295

300

Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala

305 310 315 320

Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg

370 375 380

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

385 390 395 400

Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala

405 410 415

Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg

420 425 430

Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Phe Trp Ala Leu Val Val

435 440 445

Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu

450 455 460

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

465 470 475 480

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr

485 490 495

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

500 505 510

<210> 139

<211> 1557

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-CD28Cys

<400> 139

atgagagagg acctgctgct gggcttctg ctgctggac tgctgtggg ggccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgcc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgcct gcagcctgaa gtccccaaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccaggcgt gccttagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgt 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctgaaagag 360

aggggactgc agagggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgcctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgttaccgt gcggtgtgcct aacagagccc tggctgtc cctgagactg 480  
 agagtggcc aggcagcat gatcgccctct ccatctggcg tgctgaagct gagcactgg 540  
 gtgctgtga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgcccggt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattcctg 660  
 ctgtgtcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gtcgtgtct gacatacagg 720  
 gacggcttca acgtgtccat cacatacaac ctgaagggtgc tggccttgaa acccgtggct 780  
 cctctgacag tgtacgcccgc cgagggcagc agagtggaaac tgccttgtca tctgccaccc 840  
 ggcgtggca cacttctct gctgatgccc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900  
 ctgcccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaaaggact gggcctggct 960  
 caggccggca ctttacacccat tagcatccat ctgcaggccc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcaccgt gaccccaag agcttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080  
 ctgctgtgt aagtgacccc cgccagcggc aaagaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140  
 aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgtggcc 1200  
 gagcgggtgc agtgcacgt gtatgaggga cagcgtactgc tggcggccac tgtgtacgct 1260  
 gctgagtcta gctctggcgc ccacagcggc agaagaatca gcccgtatct gaaggccggc 1320  
 caccgtgtgcc acacccagag cagcccaag ctgttctggg ccctgggtgt ggtggccggc 1380  
 gtgctgtttt gttacggct gtcgtgacc gtggccctgt gcgtgatctg gaccaacagc 1440

agaagaaaca gaggcggcca gagcgtactac atgaacatga ccccaagaag gcctggctg 1500  
 accagaaagc ctttaccatggcc ttacggccctt gcccggact tcggccctta cagacct 1557

&lt;210&gt; 140

&lt;211&gt; 519

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3-CD28Cys

&lt;400&gt; 140

Met Arg Glu Asp Leu Leu Gly Phe Leu Leu Gly Leu Leu Trp

1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

35 40 45

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

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe  
 115 120 125

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His  
 130 135 140

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu  
 145 150 155 160

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys  
 165 170 175

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

180 185 190

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr  
 195 200 205

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Pro Gln  
 210 215 220

Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg  
 225 230 235 240

Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu  
 245 250 255

Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val  
 260 265 270

Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu  
 275 280 285

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

290	295	300	
Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala			
305	310	315	320
Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu			
325	330	335	
Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe			
340	345	350	
Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala			
355	360	365	
Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg			
370	375	380	
Ser Cys Pro Gly Pro Val Leu Glu Ile Gln Glu Ala Arg Leu Leu Ala			
385	390	395	400
405	410	415	
Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala			
420	425	430	
Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg			
435	440	445	
Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Cys His Thr Gln Ser Ser			
450	455	460	
Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys			
465	470	475	480
Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser			
485	490	495	
Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg			
500	505	510	
Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg			
Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro			
515			
<210> 141			
<211> 1530			
<212> DNA			

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 141

atgagagagg acctgctgct gggcttctg ctgctggac tgctgtggga ggccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtgg cttaggaagg cgctcctgtg 120

catctgcct gcagcctgaa gtccccaaac ctggaccca acttccttag aagaggccgc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccaggca tgcctagccc tagacagcct gcccctggca gatacaccgt gctgtctgt 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggc ctgcctgag aacagatgcc 420

ggcgagtagacc acgctaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatcgccctt ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

gtgctgtga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctgggtccag 600

ggacagaaca gagtgcccggt gtacaacagc cccagacact tcctggccga gacattctg 660

ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgt gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaagggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgtacgccc cgagggcagc agagtggAAC tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtggca cacttctct gctgatgcct aagtggaccc ctccaggcgg aggacactgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcaggccc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggcccg tgcgtaccgt gaccccaag agcttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080

ctgctgtgtg aagtgcaccc cgccagcggc aaagaaagat tgcgtggcg gcctctgAAC 1140

aacctgagca gatctgccc aggcccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcggtggc agtgcagact gtatgaggga cagcgcactgc tggcggccac tgtgtacgct 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgc agaagaatct gccacaccca gagcagcccc 1320

aagctgttct gggccctgggt ggtggtggcc ggcgtgctgt ttgttacgg cctgctcg 1380

accgtggccc tgcgtgtat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgc 1440

tacatgaaca tgaccccaag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500

ctgccagag acttcgcccgc ctacagacat 1530

&lt;210&gt; 142

&lt;211&gt; 510

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muLag3-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 142

Met Arg Glu Asp Leu Leu Leu Gly Phe Leu Leu Leu Gly Leu Leu Trp

1 5 10 15

Glu Ala Pro Val Val Ser Ser Gly Pro Gly Lys Glu Leu Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Val His Leu Pro Cys Ser Leu Lys Ser

35 40 45

Pro Asn Leu Asp Pro Asn Phe Leu Arg Arg Gly Gly Val Ile Trp Gln

50 55 60

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

65 70 75 80

His Gln Gly Met Pro Ser Pro Arg Gln Pro Ala Pro Gly Arg Tyr Thr

85 90 95

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

100 105 110

His Pro His Val Gln Leu Glu Glu Arg Gly Leu Gln Arg Gly Asp Phe

115 120 125

Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Leu Arg Thr Asp Ala Gly Glu Tyr His

130 135 140

Ala Thr Val Arg Leu Pro Asn Arg Ala Leu Ser Cys Ser Leu Arg Leu

145 150 155 160

Arg Val Gly Gln Ala Ser Met Ile Ala Ser Pro Ser Gly Val Leu Lys

165 170 175

Leu Ser Asp Trp Val Leu Leu Asn Cys Ser Phe Ser Arg Pro Asp Arg

180 185 190

Pro Val Ser Val His Trp Phe Gln Gly Gln Asn Arg Val Pro Val Tyr

195 200 205

Asn Ser Pro Arg His Phe Leu Ala Glu Thr Phe Leu Leu Leu Pro Gln  
 210 215 220  
 Val Ser Pro Leu Asp Ser Gly Thr Trp Gly Cys Val Leu Thr Tyr Arg  
  
 225 230 235 240  
 Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Thr Tyr Asn Leu Lys Val Leu Gly Leu  
 245 250 255  
 Glu Pro Val Ala Pro Leu Thr Val Tyr Ala Ala Glu Gly Ser Arg Val  
 260 265 270  
 Glu Leu Pro Cys His Leu Pro Pro Gly Val Gly Thr Pro Ser Leu Leu  
 275 280 285  
 Ile Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Pro Glu Leu Pro Val Ala  
 290 295 300  
  
 Gly Lys Ser Gly Asn Phe Thr Leu His Leu Glu Ala Val Gly Leu Ala  
 305 310 315 320  
 Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Ser Ile His Leu Gln Gly Gln Gln Leu  
 325 330 335  
 Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Val Ile Thr Val Thr Pro Lys Ser Phe  
 340 345 350  
 Gly Leu Pro Gly Ser Arg Gly Lys Leu Leu Cys Glu Val Thr Pro Ala  
 355 360 365  
 Ser Gly Lys Glu Arg Phe Val Trp Arg Pro Leu Asn Asn Leu Ser Arg  
  
 370 375 380  
 Ser Cys Pro Gly Pro Val Leu Glu Ile Gln Glu Ala Arg Leu Leu Ala  
 385 390 395 400  
 Glu Arg Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Glu Gly Gln Arg Leu Leu Gly Ala  
 405 410 415  
 Thr Val Tyr Ala Ala Glu Ser Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg  
 420 425 430  
 Ile Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val  
 435 440 445  
  
 Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu

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

<210> 143  
<211> 765

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3tm-CD28

<400> 143

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctccctgctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtggcgaagaacgcctacctgcccctgcagctac	120
accctgtctacacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggggcaaggggcctt ctgccttgg	180
agccagtgcaccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc	240
agcagataacc agctgaaggg cgacactgaac aaggcgacg tgcctgtat catcaagaac	300
gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac	360

gacaagaagcttggactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccgacata	420
gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcg cacctggcc	540
gacgagatca aggacagcg cgagacaatc agaaccgcca tccacatcg cgtggcgat	600
tccgctggac tgacactggc tctgatcatc ggagtgctga tcaacagcg aagaaacaga	660
ggcgccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc	720
taccagecctt acgcccctgc cagagacttc gccgcttaca gaccc	765

<210> 144

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

&lt;223&gt; muTim3tm-CD28

&lt;400&gt; 144

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Gln Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

35 40 45

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

85 90 95

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

100 105 110

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

115 120 125

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

130 135 140

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

165 170 175

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

180 185 190

Ala Ile His Ile Gly Val Gly Val Ser Ala Gly Leu Thr Leu Ala Leu

195 200 205

Ile Ile Gly Val Leu Ile Asn Ser Arg Arg Asn Arg Gly Gln Ser

210 215 220

Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro

225 230 235 240

Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

245 250 255

<210> 145

<211> 783

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-CD28tm

<400> 145

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctccctgtgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtggcagaagaacgcctacactgctctgcagctac	120
accctgtctta cacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggggcaaggcgttctgccttgg	180
agccagtgcaccaacgagct gctgagaaccgacgagagaaacgtgaccta ccagaagtcc	240
agcagatacc agctgaagggcgacctgaaac aaggcgcacgttccctgtatcatcaagaac	300
gtgacccttgg acgaccacggcacctactgtc tgcagaatcc agtccccggcctgtatgaac	360
gacaagaagcttgaactgaa gctggacatc aaggccgcctaaagtgacccc tgccagaca	420

gccccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctggcc	540
gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct tctggccct ggtgggtg	600
gccggcgtgc ttgtttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc	660
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	720
ggcctgacca gaaaggccata ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga	780
cct	783

<210> 146

<211> 261

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-CD28tm

<400> 146

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Gln Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

35 40 45

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

85 90 95

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

100 105 110

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

115 120 125

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

130 135 140

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

165 170 175

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

180 185 190

Ala Phe Trp Ala Leu Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly

195 200 205

Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg

210 215 220

Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Ala Ala Tyr Arg Pro

260

&lt;210&gt; 147

&lt;211&gt; 810

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muTim3-CD28Cys

&lt;400&gt; 147

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctccctgctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agccctggaaa acgcctacgt gttcgaagtggcagaacgc cctacctgcc ctgcagctac	120
accctgtctta cacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggggcaagggtt ctgccttgg	180
agccagtgcaccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc	240
agcagataacc agctgaaggg cgacactgaac aaggcgcacgttccctgtatcatcaagaac	300
gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccctgg cctgatgaac	360
gacaagaagcttgaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgccagaca	420
ccccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcggtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctggcc	540
gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct gccacacccca gagcagcccc	600
aagctgttct gggccctgggt ggtggtggcc ggcgtgctgtttgttacgg cctgctcg	660
accgtggccc tggcggtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgc	720
tacatgaaca tgacccctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgccc	780
cctgccagag acttcggccgc ctacagaccc	810

&lt;210&gt; 148

&lt;211&gt; 270

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muTim3-CD28Cys

&lt;400&gt; 148

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Gln Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

35 40 45

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

85 90 95

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

100 105 110

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

115 120 125

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

130 135 140

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

165 170 175

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Asp Ser Gly Glu Thr Ile Arg Thr

180 185 190

Ala Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val

195 200 205

Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu

210 215 220

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

225 230 235 240

Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr

245 250 255

Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro

260 265 270

<210> 149

&lt;211&gt; 783

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muTim3-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 149

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctcctgctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtggcaagaacg cctacactgcc ctgcagctac	120
accctgtctta cacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggggcaaggcctt ctgccttgg	180
agccagtgcaccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc	240
agcagatacc agctgaaggg cgacactgaac aaggcgcacg tgcctgtat catcaagaac	300
gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agtccccgg cctgatgaac	360
gacaagaagcttggactgaa gctggacatc aaggcccca aagtgacccc tgccagaca	420
gccccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctggcc	540
gacgagatca agtgcacac ccagagcgc cccaaagctgt tctggccct ggtgggttg	600
gcccgcgtgc tttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc	660
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	720
ggcctgacca gaaaggcccta ccagccttac gcccctgcca gagacttcgc cgcctacaga	780

cct

783

&lt;210&gt; 150

&lt;211&gt; 261

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; muTim3-9aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 150

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu Leu Leu Gln Leu

1 5 10 15

Leu Leu Ala Arg Ser Leu Glu Asn Ala Tyr Val Phe Glu Val Gly Lys

20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Ser Tyr Thr Leu Ser Thr Pro Gly Ala Leu

35 40 45

Val Pro Met Cys Trp Gly Lys Gly Phe Cys Pro Trp Ser Gln Cys Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Tyr Gln Leu Lys Gly Asp Leu Asn Lys Gly Asp Val Ser Leu

85 90 95

Ile Ile Lys Asn Val Thr Leu Asp Asp His Gly Thr Tyr Cys Cys Arg

100 105 110

Ile Gln Phe Pro Gly Leu Met Asn Asp Lys Lys Leu Glu Leu Lys Leu

115 120 125

Asp Ile Lys Ala Ala Lys Val Thr Pro Ala Gln Thr Ala His Gly Asp

130 135 140

Ser Thr Thr Ala Ser Pro Arg Thr Leu Thr Thr Glu Arg Asn Gly Ser

145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Val Thr Leu His Asn Asn Asn Gly Thr Lys Ile

165 170 175

Ser Thr Trp Ala Asp Glu Ile Lys Cys His Thr Gln Ser Ser Pro Lys

180 185 190

Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys Tyr Gly

195 200 205

Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser Arg Arg

210 215 220

Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro

225 230 235 240

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

245 250 255

Ala Ala Tyr Arg Pro

260

&lt;210&gt; 151

&lt;211&gt; 1536

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3tm-CD28

&lt;400&gt; 151

atgtgggaag cgcatgttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcccgat	60
aagccgctcc aaccgggtgc agagggtccg gtagtgtgg cgcaagaggg tgccaccagcg	120
cagctccct gcagtcgcac gattccgctg caagatttg cactgcttag aaggcgggc	180
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc	240
gccccggcc ctcatccgc agcaccgagc agctgggtc cttagaccacg cagatataca	300
gtactctcag taggtcccg cgccctgcgg tccggcgtct tgcccttca acctagat	360
cagctggatg aaagaggtcg acaacgggtt gatttctccc tctgggttag gcctgcacga	420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt	480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga	540
gcctctgatt ggttaataact caactgctca ttttctcgcc cagatcgccc cgctagtgtt	600
cattggttcc gaaatcgccg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacca	660
ttggcggagt ctttcttt tctgcctcag gtctccctta tggactctgg accgtgggc	720
tgtatttga catatcgga tgggttaac gtgagttaa tgtataatct cactgtcttgc	780
ggtcttgcac cacctacgcc gctgacggtg tacgcggag ccggcagccg gtttgtctg	840
ccctgcaggc tgcctgcagg agtcggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg	900
ccaggtgggg gccccgacct cttgttaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt	960
gaggatgtct ctcaagctca ggctggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag	1020
cagttaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtat	1080
ccgggttagcc tggcaact gttgtgttag gtaaccccg tgtcaggtca agagcggttc	1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gcccggccctg gctcgaagcc	1200
caagaagccc agtgccttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt	1260
ctcggcggc ctgtctactt caccgaatttgc tccctccgg gagcgcaaa aagtggacgc	1320
gccccagggg ccctccggc aggacacctt ctgctgttt tgatttggg ggtacttagt	1380
ttgctgtgc ttgtcacagg cgctttcggt ttccgcagca agcggagcag aggccggcac	1440
agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg cctggccca ccagaaagca ctaccagccc	1500
tacggccctc cccggactt tgccgcctac agaagc	1536

&lt;210&gt; 152

&lt;211&gt; 512

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3tm-CD28

&lt;400&gt; 152

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

1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

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

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

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

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

180 185 190

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

195

200

205

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

210

215

220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

290

295

300

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

305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

325

330

335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr

340

345

350

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

355

360

365

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

370

375

380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

405

410

415

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

420

425

430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

435

440

445

His Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu  
 450 455 460  
 Val Thr Gly Ala Phe Gly Phe Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His  
 465 470 475 480  
 Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys  
 485 490 495

His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 500 505 510

&lt;210&gt; 153

&lt;211&gt; 1350

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3 ectodomain

&lt;400&gt; 153

atgtgggaag cgcagttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta	60
aagccgtcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg	120
cagctccct gcagtcgac gattccgctg caagatttg cactgcttag aagggcgggc	180
gtAACGTGGC agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc	240

gccccggcc ctatccgc agcacggcgc agctgggtc ctagaccacg cagatataca	300
gtactctcag taggtcccg cgccctgcgg tccggctcgct tgcccttca acctagagta	360
cagctggatg aaagaggtcg acaacgggtt gatttctcc tctgggttag gcctgcacga	420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt	480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga	540
gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcgcc cagatcgccc cgctagtgtt	600
cattggttcc gaaatcgccg ccaaggctcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat	660

ttggcggagt ctttcttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtggggc	720
tgtatttga catatcgga tgggttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtttg	780
ggcttigac cacctacgcc gctgacggtg tacgcggag ccggcagccg gttggcttg	840
ccctgcaggc tgcctgcagg agtcggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg	900
ccaggtgggg gccccgacct cttgttaacg ggagataatg gagattcac tctgagactt	960
gaggatgtct ctaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcaatt gcaagaacag	1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtatc 1080

ccgggttagcc tggcaaaact gttgtgtgag gtaaccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgcttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattt tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctccggc aggacacctt 1350

<210> 154

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3 ectodomain

<400> 154

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

1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

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

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

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

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

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

435	440	445
-----	-----	-----

His Leu

450

<210> 155

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3 transmembrane domain

<400> 155

ctgctgttt tgatgggg ggtacttagt ttgctgctgc ttgtcacagg cgcttcggt	60
ttc	63

<210> 156

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3 transmembrane domain

<400> 156

Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Val Thr

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly Ala Phe Gly Phe

20

<210> 157

<211> 1554

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3-CD28tm

&lt;400&gt; 157

atgtgggaag cgcatcttct tggacttctt tttccacgc cgctgtgggt tgcgccagta	60
aagccgctcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg	120
cagctccct gcagtcgcac gattccgctg caagatttg cactgcttag aaggcgggc	180
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc	240
ccccccggcc ctatccgc agcaccgagc agctgggtc ctagaccacg cagatataca	300
gtactctcag tagtcccg cgccctgcgg tccggcgcgt tgcccttca acctagagta	360
cagctggatg aaagaggtcg acaacgggtt gatttctccc tctgggttag gcctgcacga	420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt	480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga	540
gcctctgatt ggttaatact caactgctca ttttctcgcc cagatcgccc cgctagtgtt	600
cattggttcc gaaatcgccg ccaaggctcg gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat	660
ttggcggagt ctttcttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtgggc	720
tgtatttga catatcgaaa tgggttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttgc	780
ggtcttgagc cacctacgcc gctgacgggt tacgcgggag ccggcagccg gttggctcg	840
ccctgcaggc tgcctgcagg agtcggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg	900
ccaggtgggg gccccgaccc cttgttaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt	960
gaggatgtct ctaagactca ggctggact tatacatgtc acattcaact gcaagaacag	1020
cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggttagt	1080
ccgggttagcc tggcaaaact gttgtgttag gtaaccccg tgcaggta agagcgggtc	1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gcggaccctg gctcgaagcc	1200
caagaagccc agtcgtttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgaggcctt	1260
ctcgggtcgg ctgtctactt caccgaattt tcctctccgg gagcgcaaaag aagtggacgc	1320
cccccagggg ccctccggc aggacaccc ttctgggtgc tgggggtggt cggaggcgtg	1380
ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tctttgggt ccgcagcaag	1440
cgagcagag gcccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc	1500
agaaagcact accagcccta cggccctccc cggacttgc cgcctacag aagc	1554

&lt;210&gt; 158

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3-CD28tm

&lt;400&gt; 158

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

1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

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

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

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

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210	215	220
Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly		
225	230	235
Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn		
245	250	255
Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala		
260	265	270
Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val		
275	280	285
Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly		
290	295	300
Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu		
305	310	315
Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His		
325	330	335
Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr		
340	345	350
Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu		
355	360	365
Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser		
370	375	380
Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala		
385	390	395
Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln		
405	410	415
Gly Glu Arg Leu Leu Gly Ala Ala Val Tyr Phe Thr Glu Leu Ser Ser		
420	425	430
Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly		
435	440	445
His Leu Phe Trp Val Leu Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr		
450	455	460
Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys		

465 470 475 480

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

485 490 495

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

500 505 510

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

515

<210> 159

<211> 1554

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-12aas-CD28Cys

<400> 159

atgtgggaag	cgccagtttct	tggacttctt	tttctccagc	cgctgtgggt	tgcgccagta	60
aagccgctcc	aaccgggtgc	agaggttccg	gtagtgtggg	cgcaagaggg	tgcaccagcg	120
cagctccct	gcagtcgac	gattccgctg	caagatttgt	cactgcttag	aaggcgggc	180

gtaacgtggc	agcaccaacc	ggatagtgcc	cctccggctg	cagcaccagg	gcacccactc	240
ccccccggcc	ctcatcccg	agcacccgac	agctgggtc	ctagaccacg	cagatataca	300
gtactctcag	tagtcccg	cgccctgccc	tccggctcgct	tgccttca	acctagatgt	360
cagctggatg	aaagaggtcg	acaacgggt	gatttctccc	tctgggtttag	gcctgcacga	420
cgagcagatg	ctggggagta	tagggctgcc	gtacacctgc	gagaccgcgc	acttagttgt	480
agactccggc	tccggctggg	acaggcctct	atgacagcgt	ccccccctgg	gtccctgcga	540
gcctctgatt	ggtaataact	caactgctca	tttctcgcc	cagatcgccc	cgctagtgtt	600

cattggttcc	gaaatcgccg	ccaaggtcgc	gtgcctgttc	gagaatctcc	acaccacat	660
ttggcggagt	ctttctttt	tctgcctcag	gtctccctta	tggactctgg	accgtgggc	720
tgtatttga	catatcgga	tgggttaac	gtgagtataa	tgtataatct	cactgtcttg	780
ggtcttgagc	cacctacgcc	gctgacggtg	tacgcggag	ccggcagccg	ggttggctcg	840
ccctgcaggg	tgcctgcagg	agtccggaca	aggtcattcc	ttacagcaaa	gtggaccccg	900
ccaggtgggg	ggcccgacct	ccttgtaacg	ggagataatg	gagattcac	tctgagactt	960
gaggatgtct	ctcaagctca	ggctgggact	tatacatgtc	acattcaactt	gcaagaacag	1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtatg	1080
ccgggttagcc tggccaaact gttgtgtgag gtaaccccg tgcaggatca agagcggttc	1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gcggaccctg gctcgaagcc	1200
caagaagccc agctgcattt ccaaccatgg cagtgcaac tctatcaggg tgagcgcctt	1260
ctcgtgcgg ctgtctactt caccgaatttgc tccctccgg gagcgcaaag aagttgtccc	1320
agccctctgt ttcccgcccc tagcaaggct ttctgggtgc tggtggtggt cggaggcgtg	1380
ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tctttgggt ccgcagcaag	1440

cgagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc	1500
--	------

agaaagcaact accagcccta cgccctccc cgggacttgc cgcctacag aagc	1554
--	------

&lt;210&gt; 160

&lt;211&gt; 518

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huLag3-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 160

Met Trp Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp

1 5 10 15

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

20 25 30

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35 40 45

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

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

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

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala  
 130 135 140  
 Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys  
 145 150 155 160  
 Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro  
 165 170 175  
  
 Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser  
 180 185 190  
 Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln  
 195 200 205  
 Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser  
 210 215 220  
 Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn  
  
 245 250 255  
 Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala  
 260 265 270  
 Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val  
 275 280 285  
 Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly  
 290 295 300  
 Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu  
 305 310 315 320  
  
 Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His  
 325 330 335  
 Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr  
 340 345 350  
 Val Thr Pro Lys Ser Phe Gly Ser Pro Gly Ser Leu Gly Lys Leu Leu  
 355 360 365  
 Cys Glu Val Thr Pro Val Ser Gly Gln Glu Arg Phe Val Trp Ser Ser  
 370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr

450 455 460

Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys

465 470 475 480

Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg

485 490 495

Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp

500 505 510

Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

515

<210> 161

<211> 1314

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-12aas

<400> 161

atgtggaaag cgcagtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtgg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctccct gcagtccgac gattccgctg caagatttg cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc 240

gccccggcc ctcatccgc agcacccgagc agctgggtc ctagaccacg cagatataca 300

gtactctcag taggtcccg cggcctgcgg tccggtcgtc tgcccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacgggtt gatttctccc tctgggtttag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacaccctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt ccccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt ggttaatact caactgctca ttttctcggc cagatgcgcg cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgccg ccaaggctcg gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660

ttggcggagt ctttcttt tctgccttagt gtctccctta tggactctgg accgtgggc 720

tgtatTTGA catatcgGGA tgggttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtctt 780

ggtcttgagc cacctacgccc gctgacgggtg tacgcggag ccggcagccg gtttgtctg 840

ccctgcaggc tgccctgcagg agtcggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccaggtgggg gccccgacct cttgttaacg ggagataatg gagattcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaatac tttcggtagt 1080

ccgggttagcc tggcaact gttgtgttagt gtaaccccg tgtcaggta agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgcttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgccg ctgtctactt caccgaatttgc tccctccgg gagcgcaaaag aagt 1314

<210> 162

<211> 438

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-12aas

<400> 162

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val

20	25	30
----	----	----

Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu  
 65 70 75 80  
 Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro  
 85 90 95  
 Arg Arg Tyr Thr Val Leu Ser Val Gly Pro Gly Gly Leu Arg Ser Gly  
 100 105 110  
 Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln  
  
 115 120 125  
 Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala  
 130 135 140  
 Gly Glu Tyr Arg Ala Ala Val His Leu Arg Asp Arg Ala Leu Ser Cys  
 145 150 155 160  
 Arg Leu Arg Leu Arg Leu Gly Gln Ala Ser Met Thr Ala Ser Pro Pro  
 165 170 175  
 Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser  
 180 185 190  
  
 Arg Pro Asp Arg Pro Ala Ser Val His Trp Phe Arg Asn Arg Gly Gln  
 195 200 205  
 Gly Arg Val Pro Val Arg Glu Ser Pro His His His Leu Ala Glu Ser  
 210 215 220  
 Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn  
 245 250 255  
 Leu Thr Val Leu Gly Leu Glu Pro Pro Thr Pro Leu Thr Val Tyr Ala  
  
 260 265 270  
 Gly Ala Gly Ser Arg Val Gly Leu Pro Cys Arg Leu Pro Ala Gly Val  
 275 280 285  
 Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly  
 290 295 300  
 Pro Asp Leu Leu Val Thr Gly Asp Asn Gly Asp Phe Thr Leu Arg Leu  
 305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

405 410 415

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

420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser

435

<210> 163

<211> 1590

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-CD28Cys

<400> 163

atgtggaaag cgcatgtttct tggacttctt tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta	60
aagccgcgtcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg	120
cagctccctt gcagtccgac gattccgctg caagatttgta cactgcttag aaggcgggc	180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcacccactc	240
gccccggcc ctcatccgc agcacccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca	300
gtactctcag tagtccccgg cggcctgcgg tccggctcgct tgccttca acctagatgt	360
cagctggatg aaagaggtcg acaacgggtt gatttctccc tctgggttag gcctgcacga	420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt	480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtcctgcga	540

gcctctgatt gggtaataact caactgctca ttttctggc cagatcgccc cgctagtgtt	600
cattggttcc gaaatcgccg ccaaggctgc gtgcctgtc gagaatctcc acaccacat	660
ttggcggagt ctttcttt tctgcctcag gtctccctta tggactctgg accgtgggc	720
tgtatitga catatcgga tgggttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtctg	780
ggtcttggc cacctacgccc gctgacgggt tacgcggag ccggcagccg gttggctcg	840
ccctgcaggc tgcctgcagg agtcggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg	900
ccaggtgggg gccccgacct cttgttaac ggagataatg gagattcac tctgagactt	960
gaggatgtct ctcaagctca ggctggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag	1020
cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtatg	1080
ccgggttagcc tggcaaaact gttgtgttag gtaaccccg tgtcaggtca agagcggttc	1140
gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatcctta gcggaccctg gctcgaagcc	1200
caagaagccc agctgcttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt	1260
ctcggtgccg ctgtctactt caccgaatttgc tccctccgg gagcgcaaag aagtggacgc	1320
gccccagggg ccctccggc aggacacatttgc tgcctccggc ctctgtttcc cggccctagc	1380
aagcctttct gggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggc	1440
accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac	1500
tacatgaaca tgacccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc	1560
cctccccggg acttgcgc ctacagaagc	1590
<210> 164	
<211> 530	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huLag3-CD28Cys	
<400> 164	
Met Trp Ala Gln Phe Leu Gly Leu Leu Phe Leu Gln Pro Leu Trp	
1 5 10 15	
Val Ala Pro Val Lys Pro Leu Gln Pro Gly Ala Glu Val Pro Val Val	
20 25 30	
Trp Ala Gln Glu Gly Ala Pro Ala Gln Leu Pro Cys Ser Pro Thr Ile	
35 40 45	

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

50 55 60

His Gln Pro Asp Ser Gly Pro Pro Ala Ala Ala Pro Gly His Pro Leu

65 70 75 80

Ala Pro Gly Pro His Pro Ala Ala Pro Ser Ser Trp Gly Pro Arg Pro

85 90 95

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

100 105 110

Arg Leu Pro Leu Gln Pro Arg Val Gln Leu Asp Glu Arg Gly Arg Gln

115 120 125

Arg Gly Asp Phe Ser Leu Trp Leu Arg Pro Ala Arg Arg Ala Asp Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Ser Leu Arg Ala Ser Asp Trp Val Ile Leu Asn Cys Ser Phe Ser

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Phe Leu Phe Leu Pro Gln Val Ser Pro Met Asp Ser Gly Pro Trp Gly

225 230 235 240

Cys Ile Leu Thr Tyr Arg Asp Gly Phe Asn Val Ser Ile Met Tyr Asn

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Gly Thr Arg Ser Phe Leu Thr Ala Lys Trp Thr Pro Pro Gly Gly Gly

290 295 300

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

305 310 315 320

Glu Asp Val Ser Gln Ala Gln Ala Gly Thr Tyr Thr Cys His Ile His

325 330 335

Leu Gln Glu Gln Gln Leu Asn Ala Thr Val Thr Leu Ala Ile Ile Thr

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Leu Asp Thr Pro Ser Gln Arg Ser Phe Ser Gly Pro Trp Leu Glu Ala

385 390 395 400

Gln Glu Ala Gln Leu Leu Ser Gln Pro Trp Gln Cys Gln Leu Tyr Gln

405 410 415

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

420 425 430

Pro Gly Ala Gln Arg Ser Gly Arg Ala Pro Gly Ala Leu Pro Ala Gly

435 440 445

His Leu Cys Pro Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp

450 455 460

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

465 470 475 480

Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly

485 490 495

Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr

500 505 510

Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr

515 520 525

Arg Ser

530

<210> 165

<211> 792

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3tm-CD28

<400> 165

atgttctccc atcttcctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg	60
tcaaggcgaag tagagtaccg ggcggaaagta ggtcagaacg catabtccc ctgttttac	120
acaccccgctg cgccggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt	180
ttcggatgtg gcaacgttgtt cctccggacg gatgagcggag acgtgaattt ttggacgagc	240
agatatttgtt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgtt	300
acgcttgctg atagcgggat atattgtgtt agaattcaaa tccctggat taatgaacgac	360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga	420
cagcgcgact tcacggctgc cttccacgc atgttgcacca caaggggaca tggtccagcg	480
gagacccaga cacttggtag cctccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540
aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga	600
atcggtatct acataggatgc cggatatgc gccggctcg cactgcctt gatttcggg	660
gcactgattc gcagcaagcg gagcagaggc ggcacagcg actacatgaa catgacccct	720
agacggccctg gccccaccag aaagcactac cagccctacg cccctccccg ggactttgc	780

gcctacagaa gc 792

<210> 166

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3tm-CD28

<400>

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln

20 25 30

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

35

40

45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

50

55

60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

65 70 75 80

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

85

90

95

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

100

105

110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

115

120

125

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

130

135

140

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

145 150 155 160

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

165

170

175

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu

180

185

190

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Ile Tyr Ile Gly Ala Gly

195

200

205

Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile Phe Gly Ala Leu Ile Arg

210

215

220

Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro

225 230 235 240

Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro

245

250

255

Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

260

&lt;210&gt; 167

&lt;211&gt; 606

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3 ectodomain

&lt;400&gt; 167

atgttctccc atctccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgct tctcacccgg	60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgttttac	120
acacccgctg cggcggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgcctgtt	180
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgg acgtgaatta ttggacgagc	240
agatatttgtt tgaatggcga ttttagaaag ggtgaatgtga gcttgaccat tgagaatgt	300
acgcttgcgt atagcggat atattgtgt agaattcaaa tccctggat aatgaacgac	360
gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag cggccaagg tgacacccgc cccgacacga	420
cagcgcact tcacggctgc cttccacgc atgttacca caaggggaca tggccagcg	480
gagacccaga cacttggtag cttccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540
aacgagctcc gagattccag gtttgcgaat gacgttgggg attctggagc taccatcaga	600
atcggt	606

&lt;210&gt; 168

&lt;211&gt; 202

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3 ectodomain

&lt;400&gt; 168

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu

180	185	190
-----	-----	-----

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly

195	200
-----	-----

<210> 169

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3 transmembrane

<400> 169

atctacatag gtgccggat atgcgccgt ctcgcacttg cttgatttt cggggcactg 60

att 63

<210> 170

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3 transmembrane

&lt;400&gt; 170

Ile Tyr Ile Gly Ala Gly Ile Cys Ala Gly Leu Ala Leu Ala Leu Ile

1 5 10 15

Phe Gly Ala Leu Ile

20

&lt;210&gt; 171

&lt;211&gt; 810

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-CD28tm

&lt;400&gt; 171

atgttctccc atttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgtct tctcacccgg 60

tcaaggcgaag tagagtaccg ggccgaaagta ggtcagaacg catatctccc ctgttttac 120

acacccgctg cccggggaaa cctgggtccc gtgtgttggg gaaagggggc atgcctgtt 180

ttcgagtggt gcaacgtggc cctccggacg gatgagcgg acgtgaattt ttggacgagc 240

agatatttgt tgaatggcga ttttagaaag ggtgtgtga gcttgaccat tgagaatgt 300

acgcttgctg atagcgggat atattgtgtt agaattcaaa tccctggat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggttaattaaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgacca caaggggaca tggtccagcg 480

gagacccaga cacttggtag cctccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggtttct ggggtctgggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 660

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcggc gcagaggcgg ccacagcgcac 720

tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 780

cctcccccggg actttgccgc ctacagaaggc 810

&lt;210&gt; 172

&lt;211&gt; 270

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-CD28tm

&lt;400&gt; 172

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln  
 20 25 30

Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu  
 35 40 45  
 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly  
 50 55 60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser  
 65 70 75 80

Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr  
 85 90 95

Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile  
 100 105 110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val  
 115 120 125

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

130 135 140

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala  
 145 150 155 160

Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile  
 165 170 175

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu  
 180 185 190

Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Phe Trp Val Leu Val Val  
 195 200 205

Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe  
 210 215 220

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp  
 225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

&lt;210&gt; 173

&lt;211&gt; 846

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-CD28Cys

&lt;400&gt; 173

atgttctccc atttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgtc tctcacccgg	60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catatctccc ctgtttttac	120
acacccgctg cggcggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgcctgtt	180
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcggac acgtgaattt ttggacgagc	240
agatatttgtt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgtt	300
acgcttgctg atagcgggat atattgtgtt agaattcaaa tccctggat aatgaacgac	360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga	420
cagcgcact tcacggctgc ctttccacgc atgttacca caagggaca tggccagcg	480
gagacccaga cacttggtag cctccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540
aacgagctcc gagattccag gtttgcgaaat gacccgtggg attctggagc taccatcaga	600
atcggttgc ccagccctct gtttccggc ccttagcaagc ctttctgggt gctgggtgg	660
gtcggaggcg tgctggctg ctacagcctg ctggtcaccg tggccatcat catctttgg	720
gtccgcagca agcggagcag aggcggccac agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg	780

cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc tacggccctc cccggactt tgccgcctac	840
agaagc	846

&lt;210&gt; 174

&lt;211&gt; 282

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-CD28Cys

&lt;400&gt; 174

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu  
 1 5 10 15  
 Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln  
 20 25 30  
 Asn Ala Tyr Leu Pro Cys Phe Tyr Thr Pro Ala Ala Pro Gly Asn Leu  
 35 40 45  
 Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly  
 50 55 60  
 Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser  
 65 70 75 80  
 Arg Tyr Trp Leu Asn Gly Asp Phe Arg Lys Gly Asp Val Ser Leu Thr  
 85 90 95  
 Ile Glu Asn Val Thr Leu Ala Asp Ser Gly Ile Tyr Cys Cys Arg Ile  
 100 105 110  
  
 Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val  
 115 120 125  
 Ile Lys Pro Ala Lys Val Thr Pro Ala Pro Thr Arg Gln Arg Asp Phe  
 130 135 140  
 Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala  
 145 150 155 160  
 Glu Thr Gln Thr Leu Gly Ser Leu Pro Asp Ile Asn Leu Thr Gln Ile  
 165 170 175  
 Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Asp Leu  
 180 185 190  
 Arg Asp Ser Gly Ala Thr Ile Arg Ile Gly Cys Pro Ser Pro Leu Phe  
 195 200 205  
 Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val  
 210 215 220  
 Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp  
 225 230 235 240  
 Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp Tyr Met Asn Met

245 250 255

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala

260 265 270

Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

275 280

&lt;210&gt; 175

&lt;211&gt; 810

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 175

atgttctccc atttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tccctctgtctctcacccgg	60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcgaaagta ggtcagaacg catatctccc ctgttttac	120
acacccgctg cgcgggaaa cctggtccc gtgtgtggg gaaagggggc atgcctgtt	180

ttcgagtgtg gcaacgtggc cctccggacg gatgagcgag acgtgaatttttggacgagc	240
agatatttgtt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgtt	300
acgcttgcgt atagcggat atattgtgtt agaattcaaa tccctgttat aatgaacgac	360
gaaaaattca atcttggact ggttaatttccggacccgacccgac	420
cagcgcgact tcaacggctgc cttccacgc atgttgcacca caaggggacatggccagcg	480
gagacccaga cacttggtag cttccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540
aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat tttccagcc ctctgttcc cggccctagc	600

aaggcctttctt ggggtgtgggtt ggtggtcgga ggcgtgtggc cctgctacag cctgcgtggc	660
accgtggcccttc tcatcatctt ttgggtccgc agcaaggcga gcagaggcgg ccacagcgac	720
tacatgaaca tgacccttag acggcctggc cccaccagaa agcactacca ggcctacgcc	780
cctccccggg acttgcgccttctacagaagc	810

&lt;210&gt; 176

&lt;211&gt; 270

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; huTim3-12aas-CD28Cys

&lt;400&gt; 176

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln

20 25 30

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

35 40 45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

50 55 60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

115 120 125

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

130 135 140

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn Cys Pro

180 185 190

Ser Pro Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val

195 200 205

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

210 215 220

Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Gly Gly His Ser Asp

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

<210> 177

<211> 570

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-12aas

<400> 177

atgttctccc atttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tcctcctgtctctcacccgg	60
tcaagcgaag tagagtaccg ggccgaagta ggtcagaacg catatctccc ctgttttac	120

acacccgctg cggccggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgcctgtt	180
ttcgagtgtg gcaacgtggc cctccggacg gatgagcggac acgtgaattt ttggacgagc	240
agatatttgtt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgtt	300
acgcttgcgt atagcggat atattgtgtt agaattcaaa tccctgttat aatgaacgac	360
gaaaaattca atctgaagct ggtaattaaag cccggcaagg tgacacccgc cccgacacgaa	420
cagcgcgact tcacggctgc ctttccacgc atgttgcacca caagggacca tggtccagcg	480
gagacccaga cacttggtag cctccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540

aacgagctcc gagattccag gcttgcgaat	570
----------------------------------	-----

<210> 178

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-12aas

<400> 178

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu Leu Leu Leu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Thr Arg Ser Ser Glu Val Glu Tyr Arg Ala Glu Val Gly Gln

20 25 30

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

35

40

45

Val Pro Val Cys Trp Gly Lys Gly Ala Cys Pro Val Phe Glu Cys Gly

50

55

60

Asn Val Val Leu Arg Thr Asp Glu Arg Asp Val Asn Tyr Trp Thr Ser

65 70 75 80

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

85

90

95

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

100

105

110

Gln Ile Pro Gly Ile Met Asn Asp Glu Lys Phe Asn Leu Lys Leu Val

115

120

125

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

130

135

140

Thr Ala Ala Phe Pro Arg Met Leu Thr Thr Arg Gly His Gly Pro Ala

145 150 155 160

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

165

170

175

Ser Thr Leu Ala Asn Glu Leu Arg Asp Ser Arg Leu Ala Asn

180

185

190