



(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 헛친슨 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 애비뉴 엔더블유 4426  
(74) 대리인  
특허법인한성

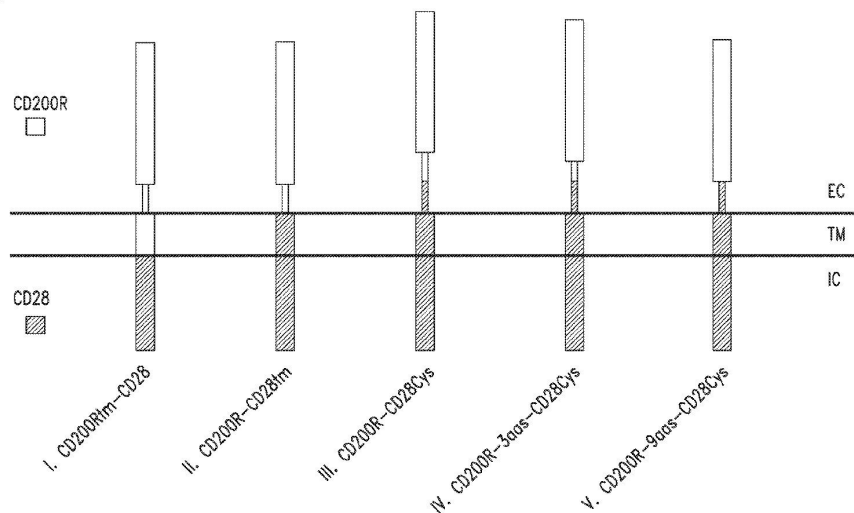
전체 청구항 수 : 총 172 항

(54) 발명의 명칭 면역조절 융합 단백질 및 그 용도

(57) 요약

본원은 세포의 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.

대표도



(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; (iii) 대략 40 nm, 25 nm, 20 nm, 15 nm, 또는 14 nm 미만 또는 이하; 또는 (iv) 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 키메라 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 키메릭 항원 수용체(CAR)와 함께 공동-편제될 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, 세포의 요소가 CD200R, SIRP $\alpha$ , CD279 (PD-1), CD2, CD95 (Fas), CD152 (CTLA4), CD223 (LAG3), CD272 (BTLA), A2aR, KIR, TIM3, CD300 또는 LPA5의 세포의 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 15

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

#### 청구항 16

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

#### 청구항 17

제 15 항 또는 제 16 항에 있어서, 추가적인 세포의 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, 세포의 요소가 CD200R의 세포의 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, 세포의 요소가 SIRP $\alpha$ 의 세포의 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 $\epsilon$ , 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, Slp76, 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 $\epsilon$ , 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, Slp76, 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) 세포의 요소가 CD200R의 세포의 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 세포의 부분이 CD200R의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 37

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

#### 청구항 38

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

#### 청구항 39

제 35 항에 있어서, CD200R의 세포의 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, 세포의 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포의 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 $\zeta$  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) 세포의 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 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 67

제 1 항에 있어서, (a) 세포의 요소가 SIRP α의 세포의 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 α의 세포의 부분이 SIRP α의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 69

제 67 항에 있어서, SIRP α의 세포의 부분이 SIRP α의 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, 세포의 요소가 CD28 막통과 도메인으로부터 연장된 CD28의 세포의 부분을 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 73

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

#### 청구항 74

제 1 항에 있어서, (a) 세포의 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) 세포의 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) 세포의 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.: 5에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 포

합하는 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) 세포의 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) 세포의 요소가 CD95 (Fas)의 세포의 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 세포의 부분이 CD95 (Fas)의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 90

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

#### 청구항 91

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

#### 청구항 92

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

#### 청구항 93

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

#### 청구항 94

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

#### 청구항 95

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

#### 청구항 96

제 1 항에 있어서, (a) 세포의 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) 세포의 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) 세포의 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) 세포의 요소가 CD2의 세포의 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 세포의 부분이 CD2의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 101

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

#### 청구항 102

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

#### 청구항 103

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

#### 청구항 104

제 1 항에 있어서, (a) 세포의 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) 세포의 요소가 TIM3의 세포의 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 세포의 부분이 TIM3의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 107

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

#### 청구항 108

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

#### 청구항 109

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

#### 청구항 110

제 1 항에 있어서, (a) 세포의 요소가 LAG3의 세포의 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 세포의 부분이 LAG3의 세포의 도메인 전체를 포함하는 것인, 융합 단백질.

#### 청구항 112

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

#### 청구항 113

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

#### 청구항 114

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

#### 청구항 115

제 5 항에 있어서, 세포의 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) 세포의 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) 세포의 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) 세포의 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 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 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 벡터를 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<sup>+</sup> T 세포인, 숙주 세포.

**청구항 152**

제 150 항에 있어서, T 세포가 CD8<sup>+</sup> 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  $K_d$ 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 세포의 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 상황에서는 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 벡터 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 펩티드와 같은 원하는 표적에 대한 특이성을 부여하였다. 다른 접근법은 키메라 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(effector 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 펩티드와 결합 할 때 개시된다(Rossy et al., Frontiers in Immunol. 3: 1-12, 2012). T 세포와 APC의 상호 작용 지점은, 종양 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, MHCI 또는 MHCII와 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, 세포의 요소 또는 이의 결합 부분은 CD200R 또는 이의 변이체의 결합 부분과 같이 CD200에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 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 분자 또는 엑토도메인의 결합 영역이거나 또는 이를 포함한다. 일부 구현예에서, 결합 도메인은 PD-L1 또는 PD-L2 또는 LAG3 분자에 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 림프구와 같은 면역 세포 상에서 일반적으로 상향 조절되는 수용체에 의해 결합된다.
- [0013] 일부 구현예에서, 세포의 요소는 하나 이상의 부가적인 영역 또는 도메인을 포함하는데, 예를 들면, 결합 도메인이 유도된 분자 이외의 분자 또는 결합 도메인이 동일성을 공유하는 분자 이외의 분자로부터 유래된 도메인을 포함한다. 하나 이상의 추가적인 세포의 도메인(들)은, 힌지의 전부 또는 부분, 또는 CH2 또는 CH3 도메인과 같은 불변부(constant region) 도메인, 또는 CD28과 같은 공동자극 수용체와 같은 다른 세포 표면 분자를 포함할 수 있는 면역글로불린 분자로부터 유래된 것과 같은 스페이스 영역을 포함할 수 있다. 추가적인 세포의 도메인(들)은 몇몇 측면에서, 예를 들면 2개 이상의 융합 단백질의 다량체화와 같은, 다른 분자와의 동중 또는 이중 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 세포의 부분 또는 그의 변형된 변이체를 포함하는 CD28 분자의 세포의 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 세포의 부분(또는 그의 결합 도메인과 같은 그의 부분), SEQ ID NO: 25에 명시되거나 또는 SEQ ID NO: 2에 명시된 핵산 분자에 의해 암호화되는 아미노산 서열을 갖는 CD200R의 세포의 부분, 또는 그의 CD200-결합 부분 또는 그의 변이체 또는 그의 결합 부분과 같은 세포의 부분과 같은 CD200-결합 도메인을 포함하는 세포의 요소를 포함하는 세포의 요소를 포함한다. 이러한 구현예의 일부 측면에서, 융합 단백질의 세포의 부분은 CD28의 세포의 영역의 일부를 추가로 포함하는데, 예를 들어 그의 약 9 내지 약 12개 아미노산(예를 들어, 9개 아미노산 또는 12개 아미노산)이고, 일부 측면에서 CD28 세포의 영역의 막-최인접(membrane-proximal-most) 시스테인 잔기를 포함한다. 이러한 일부 구현예에서, 세포의 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 분자 사이의 복합체의 세포의 부분까지 걸치는 거리, CD200R과 같은 인간 CD200R과 CD200 사이의 복합체의 복합체의 세포의 부분까지 걸치는 거리; 또는 동족 펩티드-MHC 복합체에 결합하는 MHC 분자(예를 들면, MHC I 또는 MHC II)와의 동족 상호작용에서의 TCR 사이의 복합체의 세포의 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 분자간 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 분자를 CD28에 모집할 수 있는 것이다. 일부 측면에서, CD28 세포내 도메인은 SEQ ID NO: 5의 뉴클레오타이드 서열 또는 그의 기능적 변이체의 부분에 의해 암호화되는 서열이거나 또는 그를 포함한다.
- [0014] 일부 구현예에서, 본원의 개시는 표적에 특이적으로 결합하는 결합 도메인을 포함하는 세포의 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포의 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) 세포의 요소가 CD200R의 세포의 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 세포의 요소, 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 요소, 및 상기 세포의 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) 세포의 요소가 CD200R의 세포의 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 무린(murine)  $CD8^+$  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 다량체화를 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 무린 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 검출된  $TCR_{gag}$  T 세포상의 무린 CD200R-CD28 구조체의 트랜스제닉 발현. 대조군 백터는 녹색 형광 단백질(GFP)을 함유한다.

도 2A 내지 2G는 CD200R-CD28 구조체가 생체외에서(*in vitro*)  $CD200^+$  종양 표적 세포에 반응하여 증식, 축적 및 이펙터 기능을 촉진하고, 면역 시냅스에서 축적됨을 보여준다. 순수한  $TCR_{gag}$  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 측정된 CD200R-CD28 및 GFP 제어  $TCR_{gag}$  T 세포의 증식. T 세포를 3 일 동안  $CD200^-$  FBL(상부 패널) 또는  $CD200^+$  FBL(하부 패널)로 자극 하였다. (B) 조사된  $CD200^+$  FBL 및 비장 세포를 이용하여 매주 주기로 자극하면서 비-형질도입된  $TCR_{gag}$  T 세포와 공동 배양하는 동안의 형질도입된  $TCR_{gag}$  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 세포들과 함이용하여 배양된 FBL의 백분율을 T 세포없이 배양된 FBL의 백분율로 나누어서 백분율 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 백분율 용해를 결정하였다.

도 3A 내지 3D는 CD200R-9aas-CD28Cys로 형질도입된 T 세포가 사이토산(Cytosan) 처리된 FBL 보유 마우스에 주사한 후 생체 내(*in vivo*) 종양 유발(tumor challenge)에 반응하여 우선적으로 추적되고, 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 x 10<sup>6</sup> CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 주사하였다. 5 일 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 x 10<sup>6</sup> 세포/마우스로 공동주입하였다. IL-2는 2일마다 투여되었다(2 x 10<sup>4</sup> 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; Spl = 비장). (C) CD200R-9aas-CD28Cys를 발현하도록 형질도입된 T 세포, 빈 벡터로 형질도입된 T 세포 및 내인성 T 세포를 전달한 후 3일째의 표면 단백질의 비교. CD20R-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 파종성 백혈병(disseminated leukemia)을 박멸할 수 있음을 보여준다. (A) 실험 개요. C57BL/6 마우스에게 4 x 10<sup>6</sup> CD200<sup>+</sup> FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD200R-CD28tm, CD200R-CD28Cys, CD200R-9aas-CD28Cys 또는 eGFP TCR<sub>gag</sub> T 세포를 10<sup>5</sup> 세포/마우스로 Cy-처리된 FBL 보유 마우스에 i.p. 주사(injected i.p.)하였다. IL-2를 표시된 마우스의 집단(cohort)에 2일마다 투여하였다(2 x 10<sup>4</sup> 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. CD20R-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 x 10<sup>6</sup> CD200<sup>+</sup>

FBL 세포를 주사하였다. 5일 후, CD200R-9aas-CD28Cys 및 eGFP TCR<sub>gag</sub> T 세포를  $10^5$  세포/마우스로 사이토카인 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 내지 도 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-4-1BB 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 사이토카인으로 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 $\alpha$  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 $\alpha$ -CD28 구조체의 개략적인 표현. 구조체 "I"은 SIRP $\alpha$  세포외("EC") 및 막통과("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호전달 도메인(SIRP $\alpha$ tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 SIRP $\alpha$ 의 세포외 도메인과 CD28의 막통과 및 세포내 도메인(SIRP $\alpha$ -CD28tm)을 포함한다. 구조체 "III-VI"는 또한 다량체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 CD28의 세포외 도메인의 부분을 막통과-인접 시스템에 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 류린의 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 $\alpha$ ). 구조체 IV는 N 연결된 글리코실화 부위를 보존하기 위해 절단된 6개의 아미노산인 SIRP $\alpha$ 의 절단된 부분을 갖는다. 구조체 V는 절단된 9개의 아미노산인 절단된 SIRP $\alpha$  부분을 가지고있다. 구조체 VI는 절단된 23개의 아미노산인 SIRP $\alpha$ 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 $\alpha$ <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 $\alpha$ -CD28 구조체는 증강된 축적을 보여주는 SIRP $\alpha$ -9aas-CD28Cys와 함께, 생체 외(*in vitro*)에서 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진시킨다. (C) CellTrace



Violet (CTV) 희석 증식 분석에서 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<sup>+</sup> 종양 세포는 SIRP  $\alpha$ tm-CD28 또는 SIRP  $\alpha$ -9aas-CD28Cys 구조체를 발현하도록 형질도입된 SIRP  $\alpha$ -CD28<sup>+</sup> T 세포와 함께 공배양된 후 사멸되었다. 대조적으로, 종양 세포는 빈 벡터 또는 세포내 도메인이 없는 절단된 SIRP  $\alpha$ 를 받은 T 세포와 함께 배양되었을 때 박멸되지 않았다. (E) CD47<sup>+</sup> 종양 세포의 살상을 정량화하기 위해 사용된 IncuCyte 분석 결과, CD47<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> T 세포는 시험된 가장 낮은 이펙터 대 표적 비율에서도 CD47<sup>+</sup> 종양 세포를 살상하였다.

도 9A 및 9B는 PD-1 세포의 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 다량체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스템에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 류린의 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<sup>+</sup> 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 세포의 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질이 조사된 FBL 세포를 이용한 자극에서 생체외(*in vitro*)에서 축적된다는 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 다량체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스템에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 류린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV는 Fas의 절단된 부분을 가지며, 여기서 Fas 세포의 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 축적. 모든 구조체는 대조군 T 세포에 비해 T 세포의 축적을 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 세포의 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 다량체화를 촉진시키고 CD28 신호전달을 향상시키기 위해 막통과-인접 시스템에 인접한 CD28의 세포외 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포외 아미노산(예를 들어, 류린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV는 LAG3의 절단된 부분을 가지며, 여기서 LAG3 세포의 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  $CD8^+$  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 세포의 요소 및 CD28 공동자극 신호전달 도메인을 포함하는 융합 단백질의 구조 및 발현을 도시한다. (A) 예시적인 TIM3-CD28 구조체의 도식적 표현. 구조체 "I"은 TIM3 세포의("EC") 및 막통과("TM") 도메인과 CD28 세포내(IC) 신호 전달 도메인(TIM3tm-CD28)을 포함한다. 구조체 "II"는 TIM3의 세포의 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 세포의 도메인의 부분을 삽입한다. 여분의 세포의 아미노산(예를 들어, 무린의 구조체를 위한 9개의 여분의 아미노산, 또는 인간의 구조체를 위한 12개의 아미노산)을 설명하기 위해, 구조체 IV 는 TIM3의 절단된 부분을 가지며, 여기서 TIM3 세포의 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  $CD8^+$  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 신호하는 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 세포의 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  $\pm 20\%$ 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, 힌지 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 활성화에 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 컨주게이션, 형질전환, 형질주입, 일렉트로포테이션 등에 의해 숙주 세포에 부가될 수 있고, 여기서 부가된 핵산 분자는 숙주 세포 계능에 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, 발현 수준 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, 펩티드, 올리고 펩티드, 폴리펩티드 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 폴리펩티드를 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 있는데, 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 폴리펩티드를 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 들면, 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 걸칠 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 분자간 상호 작용을 용이하게 하기 위해 하전된 영역 또는 친수성 잔기를 함유하도록 변형될 수 있다.

[0050] 본원에서 사용되는 "세포내 신호전달 도메인"은 본원의 융합 단백질에서 사용되는 것과 같은 분자의 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, Slp76, pT $\alpha$ , TCR $\alpha$ , TCR $\beta$ , TRIM, Zap70, PTCH2 또는 이들의 조합일 수 있다. 일부 구현예에서, 세포내 신호전달 도메인 또는 그 기능적 단편은 CD3 $\zeta$ 를 포함하지 않는다.

[0051] 본원에서 사용되는 "다량체화 도메인"은 직접적으로 또는 간접적으로 다른 폴리펩티드 분자 또는 영역과 우선적으로 상호 작용하거나 결합하는 폴리펩티드 분자 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 들면, 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 분자력에 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 분자에 대한 특이적 결합 친화도 또는 신호 전달 활동(예를 들면, 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 분자의 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 유래된 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<sup>+</sup> T 세포, CD8<sup>+</sup> T 세포, CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> 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<sub>CM</sub>과 비교하여 CD45RO의 발현이 감소된) 기억 T 세포(T<sub>M</sub>) (항원을 경험하고 오래 산) 및 이펙터 세포(항원을 경험하고 세포 독성인)가 될 수 있다. T<sub>M</sub>은 중앙 기억 T 세포(T<sub>CM</sub>, 나이브 T 세포와 비교하여 CD62L, CCR7, CD28, CD127, CD45RO 및 CD95의 발현 증가, 및 CD54RA의 발현 감소) 및 이펙터 기억 T 세포(T<sub>EM</sub>, 나이브 T 세포 또는 T<sub>CM</sub>과 비교하여 CD62L, CCR7, CD28, CD45RA의 발현 감소, 및 CD127 발현의 증가)의 부분 집합으로 더욱 나누어질 수 있다. 이펙터 T 세포 (TE)는 CD62L, CCR7, CD28의 발현이 감소하고 T<sub>CM</sub>에 비해 그랜자임 및 퍼포린에 대해 양성인 항원을 경험한 CD8<sup>+</sup> 세포 독성 T 림프구를 지칭한다. 다른 예시적인 T 세포에는 Tr1, Th3, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> 및 Qa-1 제한 T 세포뿐만 아니라, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> (Foxp3<sup>+</sup>) 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 이중이량체로 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 이중이량체이다. 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<sup>+</sup> 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 스프라이싱에 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 엄격한 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℃에서 0.015M 염화나트륨, 0.0015M 나트륨 시트레이트 또는 약 42℃에서 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. 디옥시올리고뉴클레오타이드의 혼성화와 관련한 예로서, 추가의 예시적인 엄격한 혼성화 조건은 37℃(14-염기 올리고뉴클레오타이드에 대해), 48℃(17-염기 올리고뉴클레오타이드에 대해), 55℃(20-염기 올리고뉴클레오타이드에 대해) 및 60℃(23-염기 올리고뉴클레오타이드에 대해)에서 6x SSC, 0.05% 소듐 피로포스페이트로 세척하는 것을 포함한다.

[0061] "벡터"는 다른 핵산을 운할 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 게놈을 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 중증 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 펩티드 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 일치율을 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 α-CD28, CD200R 41BB, SIRP α-41BB, CD200R-CD28-41BB, SIRP α-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.

#### [0068] 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 세포의 부분으로 구성된 것과 같은) 융합 단백질::표적 복합체는, 면역 시냅스에 막들 사이의 거리, 또는 예를 들면, 후술하는 TCR에 의한 그것의 특이적인 인식, 또는 자연 분자와 자연 결합 파트너 사이에 형성된 복합체의 세포의 부분까지 걸친 거리와 같이, TCR과 MHC 분자 사이의 동족 복합체의 세포의 부분까지 걸치는 거리와 같은 특정 길이이거나 특정 거리에 걸친다. 일부 구현예에서, 거리 또는 길이는 T 세포와 같은 면역 세포에서 발견될 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 시냅스는 (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 발견될 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 세포의 스팬(span)은 면역 시냅스의 특정 구획에 위치할 수 있는 정도이다. 면역 시냅스의 여러 구획에 위치하는 것으로 생각되는 일부 복합체들은 그들의 세포의 스팬의 길이에 관해 잘 특징지어진다. 예를 들어, MHC-TCR 복합체는 약 10-15 nm의 세포의 스팬을 갖는 것으로 생각되며, 보다 많은 인테그린 기반 복합체는 약 40 nm 정도의 세포의 스팬을 갖는 것으로 생각된다 (Alakoskela *et al.*, *Biophys J* 100:2865, 2011). 추가적인 예시적인 복합체는 CD2-CD48 복합체를 포함하며, 이것은 약 12.8 nm의 세포의 스팬을 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 세포의 부분 또는 그들의 결합 파트너와 같은 이들 중 어느 것의 결합체와 같은 특정한 구조체 또는 그들의 조화된 세포의 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 세포의 부분의 대략적인 길이를 결정하는데 유용한 세포의 부분 크기, 유연성 및 다른 특성을 근사하는데 사용될 수 있다. 일반적으로, 단백질의 세포의 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 세포의 부분은 면역 시냅스에 걸쳐있다. 다른 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체는 cSMAC와 같은 SMAC에 위치한다. 추가적인 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포의 부분은 TCR :: HLA-펩티드 상호 작용의 세포의 부분에 의해 정의되는 면역 시냅스에 걸쳐있다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질::표적 복합체의 세포의 부분의 길이는 약 12nm 내지 약 15nm, 또는 약 14nm이다.

[0076] 면역 시냅스에서 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 얻어지는 다른 분자로부터 유래된 추가적인 분자로부터 유래된 도메인(들)을 포함하는 곳에서, 결합 도메인을 포함하는 세포외 요소의 길이는 자연 분자의 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 분자와 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 특징의 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 활성화와 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 제조합 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 공동 자극 신호전달을 제공할 수 있다.
- [0082] 일부 구현예에서, 본 개시의 융합 단백질은 TCR 또는 키메라 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.
- [0087] 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)를 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 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 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 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 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.:17 에 기재된 핵산 분자에 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 분자에 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 핵산분자에 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 SIRP $\alpha$  엑토도메인이 제공된다.

[0095] 추가의 구현예에서, SIRP $\alpha$  엑토도메인은 SEQ ID NO.:40 에 명시된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, SIRP $\alpha$ 는 SEQ ID NO.:44 에 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 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 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 임의의 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 분자에 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 분자에 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 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.: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 CD2 이다. 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 CD2 이다.

[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 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 LAG3 엑토도메인이 제공된다.
- [0102] 추가적인 구현예에서, LAG3는 SEQ ID NO.:153에 명시된 핵산 분자에 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 분자에 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 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 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 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 TIM3 엑토도메인이 제공된다.
- [0105] 추가적인 구현예에서, TIM3는 SEQ ID NO.:167에 명시된 핵산 분자에 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 분자에 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 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 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 펩티드일 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 호모다имер이다("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 Barthelemy *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), 피브리노젠 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(DARPs)(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- 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), 테트라트리카펩티드 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), 애프바디(affibody), avimers, knottins, fynomers, atrimers, 세포독성 T-림프구 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 펩티드 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, 펩티드-MHC 복합체 또는 펩티드-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 곳에도 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  $\mu$ M에서 약 500  $\mu$ M 범위의 펩티드-HLA 복합체에 대한 친화성을 갖는다. 추가적인 구현예에서, TCR은 약 10nM에서 약 200pM 범위의 펩티드-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 세포의 요소는 다량체화 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 다량체화 도메인과 같은 결합 도메인 또는 결합 도메인으로부터 유도된 분자로부터 유도된 부분 이외에, 추가적인 세포의 영역을 더 포함한다. 예를 들면, 일부 측면에서 다량체화 도메인은 융합 단백질의 세포의 요소에 함유되거나 또는 그 일부이다. 예를 들어, 다량체화 도메인은 세포의 요소를 변경(예를 들면, 돌연변이)함으로써 생성될 수 있거나, 또는 다량체화 도메인은 1개 내지 약 50개의 아미노산 잔기를 세포의 요소에 첨가함으로써 생성될 수 있다. 다량체화 도메인은 세포의 요소의 결합 도메인과 융합 단백질의 소수성 요소 사이에 위치할 수 있다. 특정 구현예에서, 세포 표면에서 발현되는 융합 단백질은 세포의 요소 내에서 다량체화 도메인을 포함하고, 소수성 요소로부터 1 내지 50개의 아미노산 내로, 세포막에 인접한다. 예를 들어, 융합 단백질 다량체화 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 세포의 부분은 융합 단백질의 막통과 또는 자극 영역으로부터 유래된 동일한 분자로부터 유래된다.

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

[0115] 예시적인 다량체는 "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 다량체화를 "동형삼량체 (homotrimer)"라고 한다. 일부 구현예에서, 다량체화 도메인은 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하며, 여기서 제1 융합 단백질로부터 유래된 다량체화 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 다량체화될 수 있다. 또 다른 구현예에서, 융합 단백질은 세포의, 세포내 또는 둘 모두에 위치할 수 있는 복수의 다량체화 도메인을 포함한다.

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

도메인에 인접한 약 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 또는 25개까지의 아미노산을 포함한다. 일부 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 다량체화 도메인은 CD137(4-1BB) 막통과 도메인으로 부터 연장된 CD137(4-1BB)(예를 들면, 1 내지 약 50 아미노산의 범위)의 세포외 부분을 포함한다.

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

[0118] 일부 구현예에서, 융합 단백질은, 예를 들면, 다량체화 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 Gly<sub>x</sub>Ser<sub>y</sub>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 구현예에서, 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, SIp76, 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 $\zeta$ 를 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 동형이량체를 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 활성화 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 티로신계 활성화 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.
- [0129] 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, Slp76, 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**

**[0134]** 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.

**[0135]** 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 핵산 분자에 대해 첨가, 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.

**[0136]** 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).

**[0137]** 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.

**[0138]** 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.

**[0139]** 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 세포외 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.

**[0140]** 하나의 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 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.

**[0141]** 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.

**[0142]** 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP α-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들면, 본원은 SEQ ID NO.:16(huSIRP α tm-CD28) 또는 SEQ ID NO.:19 (huSIRP α-CD28tm)에 명시된 핵산 분자를 포함한다.

**[0143]** 다른 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP α-CD28 구조체를 암호화하는 핵산 분자를 제공하는데, 여기서 세포외 요소는 SIRP α의 절단된 세포외 도메인과 CD28의 세포외 부분을 포함한다. 예를 들면, SIRP α 세포외 도메인은 12개 아미노산(예를 들면, huSIRP α-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:20)에 의해 절단될 수 있다.

**[0144]** 하나의 예시적인 구현예에서, 본원은 SIRP α-CD28-4-1BB 구조체(huSIRP α-12aas-CD28Cys tm ic 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 α-CD28-4-1BB 구조체(huSIRP α-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 세포의 요소는 PD-1의 절단된 세포의 도메인과 CD28의 세포의 부분을 포함한다. 예를 들면, PD-1 세포의 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 세포의 요소는 Fas의 절단된 세포의 도메인과 CD28의 세포의 부분을 포함한다. 예를 들면, Fas 세포의 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 세포의 요소는 TIM3의 절단된 세포의 도메인과 CD28의 세포의 부분을 포함한다. 예를 들면, TIM3 세포의 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 세포의 요소는 LAG3의 절단된 세포의 도메인 및 CD28의 세포의 부분이다. 예를 들어, LAG3 세포의 도메인은 12 개의 아미노산에 의해 절단될 수 있다 (예를 들어, huLAG3-12aas-CD28Cys, SEQ ID NO.:159).
- [0153] 여기에서, 코어 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 키메라 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 이용가능하다.
- [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 세포외 도메인, 또는 절단된 인간 EGFR (huEGFRt; Wang *et al.*, *Blood* 118:1255, 2011)을 포함한다. 바이러스 벡터 게놈이 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), 푸린(furin) 절단 부위, 바이러스 2A 펩티드, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0155] 폴리뉴클레오타이드 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 배칼로바이러스 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 뷰티 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 획득되는 경우, T 세포는 혈액, 골수, 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"는 윌름즈종양 1(Wilm's tumor 1)을 지칭하며, C-말단에 네 개의 아연-핑거 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), 에틀리히 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; 조직구증; 지방종;



지방육종; 증피종; 점액종; 점액육종; 골종; 골육종; 척골종; 두개인두종; 이중기종; 과오종; 중간엽종; 증신종; 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; 라이딩 (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; 신경섬유종; 신경종; 부신경절종; 비크롬친화성 신경절종. 치료될 수 있는 암의 종류는 또한 혈관 각화증; 호산구 증가증을 동반한 혈관림프양증식증; 혈관종 경화증; 혈관 종증; 사구맥관종; 혈관 내피종; 혈관종; 혈관주위세포종; 혈관육종; 임파선종; 림프관 근종; 림프관 육종; 송과선종; 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), 털세포 백혈병, 만성 골수성 백혈병의 B 세포 아세포 전환과 같은) 및 골수종 (다발성 골수종과 같은)을 포함하는 B-세포 암이다. 추가적인 B-세포 암은 소림프구성 림프종, B-세포 전림프구성 백혈병, 림프형질세포성 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, 췌양성 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 홍반성 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, 알리지성 신경염, 베체트병, 캐슬만씨병, 굿파스처 증후군, 람베르트-이튼 근무력 증후군, 레이노 증후군, 쇼그렌 증후군, 스티븐스-존슨 증후군, 고형 장기 이식 거부, 이식편대숙주병(GVHD), 물질유사천포창, 천포창, 자가면역 다발성내분비병증, 혈청인자음성 척추관절증, 라이터병, 강직간장 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), 헤노흐 쉐넬라인 자반증, 자가 면역 혈소판 감소증, 자가 면역성 고환염 및 난소염을 포함하는 정소 및 자궁의 자가면역질환, 일차성 갑상선 기능 저하증; 자가면역 갑상선염, 만성 갑상선염 (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 쉬운 증후군을 포함하는 자가면역 내분비 질환; 자가면역성 간염, 림프성 간질성 폐렴 (HIV), 폐색성 세기관지염 (비-이식), 비특이 간질 폐렴 (NSIP), 켈랑-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, 버거씨병 (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, 현미경 다발성 혈관염, 코간 증후군, 위스킷 - 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, 파포바이러스, 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 투여 빈도는 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<sup>+</sup> T 세포에 의한 클래스 I HLA 반응을 유도하거나 증강시키는 방법이 제공되며, 여기에 기술된 융합 단백질을 발현하는 CD4<sup>+</sup> T 세포의 유효량을 이를 필요로 하는 대상에 투여하는 것을 포함한다. 추가적인 구현예에서, CD4<sup>+</sup> 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, 티오테파 및 사이클로포스파미드와 같은 알킬화제; 부설판, 임프로셀판 및 피포셀판과 같은 알킬 설포네이트; 벤조도파, 카보큐온, 메튜레도파, 및 우레도파와 같은 아지리딘; 에틸렌이민 및 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리틸레네포스포라미드, 트리에틸렌티오포스포아미드 및 트리메틸로로멜라민을 포함하는 메틸라멜라민; 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라머스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노벤펌진, 페네스테린, 프레드니머스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드와 같은 질소 머스타드; 카머스틴, 클로로조토신, 포테머스틴, 로머스틴, 니머스틴, 라니머스틴과 같은 나이트로요소(nitrosureas); 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 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, 튜베시딘, 유베니멕스, 지노스타틴, 코루비신과 같은 항생제; 메토트렉세이트 및 5-플루오로우라실(5-FU)와 같은 항-대사물질; 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트와 같은 엽산 유사체; 플루다라바인, 6-머캅토피린, 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, 테스토라톤과 같은 안드로겐; 아미노글루테티미드, 미토테인, 트릴로스테인과 같은 항-아드레날; 프롤리닉산과 같은 엽산 보충물; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼리닉산;

암사크라린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트락세이트; 테포파민; 테메폴친; 디아지퀴온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 갈륨 나이트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다몰; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 포도필리닉산; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSKTM; 라족세인, 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아조익산; 트리아지퀴온; 2, 2', 2" -트리클로로트리에틸아민; 우레탄; 빈데신; 다카바진; 만노머스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 사이클로포스파미드; 티오테파; 탁산, 예를 들어 파클리탁셀 (Taxol™, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) 및 도세탁셀 (Taxotere™, Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France); 클로람부실; 젬시타빈; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토크세이트; 시스플라틴 및 카보플라틴과 같은 백금 유사체; 빈블라스틴; 플레 티닙; 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 약학 적으로 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 세포외 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 구조t 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 키메라 수용체가 T 세포 기능을 향상시킬 수 있는지 여부를 확인하기 위해 생쥐 C57BL/6 FBL(Friend virus-induced erythroleukemia)에 기반한 전과성 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 워싱턴 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 키메라 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 이펙터 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 웰 플레이트 내에서 IL-2 및 폴리브렌의 존재 하에 100 g 에서 90 분 동안 스핀감염에 의해 수행되었다. FBL 세포는 T 세포 형질도입과 유사하게 폴리브렌 스핀감염에 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.
- [0198] **실시예 3**
- [0199] **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.
- [0201] 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 (5x10<sup>6</sup>), 방사능 조사된 FBL (3x10<sup>6</sup>), 그리고 TCR<sub>gag</sub> tg 세포 (10<sup>6</sup>)가 10 mL의 배양 배지 (비필수 아미노산, 2 μM 글루타민, 100 U/mL 페니실린/스트렙토마이신, 10% FBS 및 50 μM 2-머캅토에탄올이 보충된 IMDM) 내에서 IL-2 (50 U/mL)와 함께 배양되었다. T 세포는 매 주 재자극되었으며, 마지막 자극 5-7 일 후 유세포분석으로 평가되었다.
- [0203] 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<sup>5</sup>) 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<sup>+</sup> FBL에 의한 자극의 복수의 사이클에 걸쳐 총 TCR<sub>gag</sub> 집단 내의 형질도입된 세포의 비율이 측정되었다.

[0208] 몇몇 구조체는 CD200R-CD28tm, CD200R-CD28Cys, CD200R-3aas-CD28Cys, 및 CD200R-9aas-CD28Cys를 포함하는 형질도입된 T 세포의 축적을 촉진하였다 (도 2b). 이들 구조체 중, CD200R-9aas-CD28Cys는 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<sup>+</sup> T 세포의 혼합된 집단이 CD200<sup>+</sup> 또는 CD200<sup>-</sup> 방사선 조사된 FBL 세포에 의해 재 자극되었다. 방사선 조사된 CD200<sup>+</sup> 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(colocalization) 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<sub>hi</sub>) 또는 0.25  $\mu$ M (CFSE<sup>lo</sup>) 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°C 및 5% CO<sub>2</sub>에서 4 시간 동안 적정 수(titrated numbers)의 CD200R-CD28 또는 GFP 벡터 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> 인 비트로 확장된 이펙터 T 세포와 함께 인큐베이션되었다. 웰 내에 남아있는 총 CFSE 양성 세포 (FBL+EL4)의 % CFSE<sub>hi</sub> (FBL)을 유세포 분석하여 특이적 FBL 용해가 결정되었다.

[0215] CD200R-CD28 구조체에 의해 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포는, 공벡터에 의해 형질전환된 TCR<sub>gag</sub> T 세포와 비교하여 인 비트로에서 향상된 FBL 종양 용해능을 보여주었다 (도 2e 및 2g). EL4 세포 (CTV<sup>+</sup>), CD200<sup>+</sup> FBL (CFSE<sup>hi</sup>) 및 비-특이적 EL4 (CFSE<sup>lo</sup>) 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<sub>gag</sub> T 세포는 동일한 효율로 CD200<sup>-</sup> FBL 및 CD200<sup>+</sup> FBL을 용해하였다 (도 2g). 반면, CD200R-9aas-CD28Cys가 형질도입된 TCR<sub>gag</sub> T 세포는 대조군 T 세포와 비교하여 CD200<sup>+</sup> FBL의 증가된 사멸을 나타내었으며, 시험된 가장 낮은 E:T 비율에서 40% 이상의 CD200<sup>+</sup> FBL을 용해시켰다 (도 2g).

[0216] 종합하면, 이들 데이터는 CD200R-CD28가 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 시스템 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 치료제로서 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 비트로에서 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, 알부민 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(AST) 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 림프구 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 항성된 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 pRRLSIN 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℃에서 90 분 동안 1000 g에서 스핀감염에 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 말초혈 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 없기 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>-펄스 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.
- [0243] **실시예 9**
- [0244] **SIRP $\alpha$ -CD28 융합 단백질 구조체는 인 비트로에서 형질도입된 T 세포의 축적을 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 예에서, 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 스핀감염으로 CD47 또는 mCherry에 의해 형질도입되었으며, 이어서 동중 집단을 생성하기 위해 분류되었다.
- [0249] CD200R-9aas-CD28Cys에서 관찰된 바와 같이, SIRP $\alpha$  구조체에 의해 형질도입된 T 세포는 인 비트로에서의 복수회의 자극에 의해 축적되었다 (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 희석 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 $\alpha$ -CD28<sup>+</sup> T 세포와의 공동 배양 3 일 후에 효과적으로 사멸되었으나, 대조군 T 세포 또는 세포내 신호전달 도메인이 결여된 SIRP $\alpha$  구조체에 의해 형질도입된 T 세포의 경우에는 그렇지 않았다 (도 8d). SIRP $\alpha$ -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 $\alpha$ -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 $\alpha$ -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 브레펠딘 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 $\gamma$  및 TNF $\alpha$ 의 세포내 염색을 위해 BD Cytotfix/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**

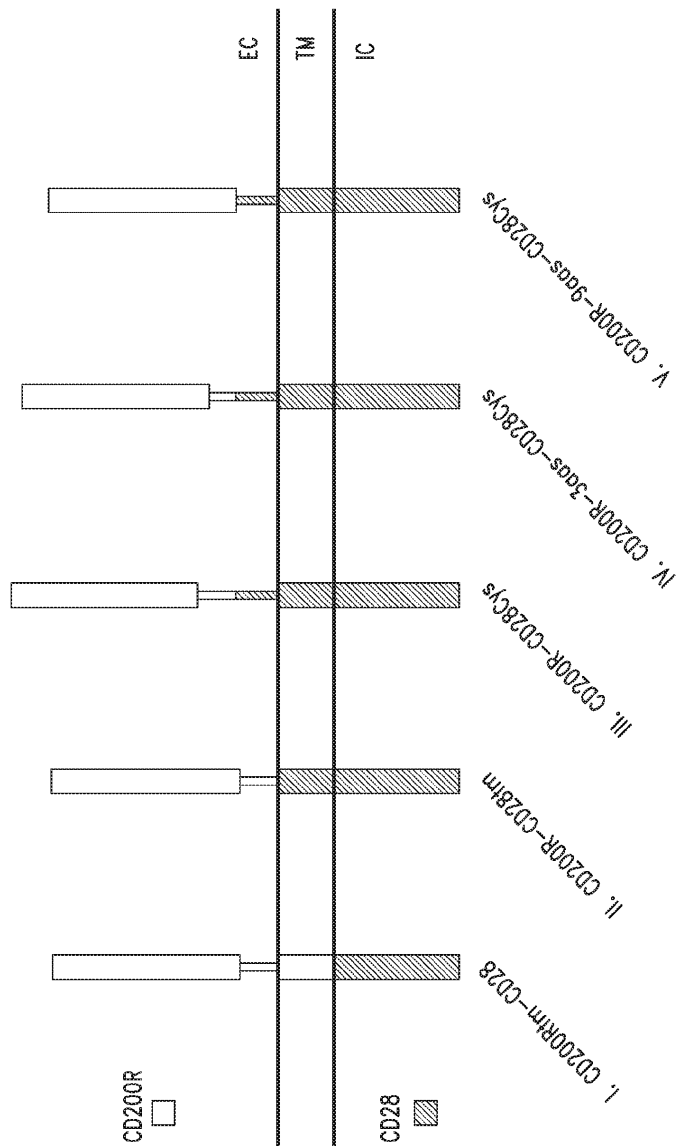
[0260] 여기에 기술된 예시적인 융합 단백질은 또한, Fas의 세포외 도메인 또는 이의 부분, 및 CD28의 세포내 신호전달 도메인으로 이루어지는 IFP를 포함한다 (도 11a). 막통과 요소는 Fas 또는 CD28의 도메인 또는 이의 부분으로 이루어질 수 있다. 일부 예시적인 Fas-CD28 융합 단백질에서, 막통과 요소는 CD28의 막통과 도메인을 포함하고, 그리고 세포외 요소는 CD28의 세포외 부분, 특히 막통과 요소에 인접한 세포외 시스테인 잔기 (예를 들어, Fas-CD28Cys 및 Fas-9aas-CD28Cys)를 더 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 그의 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 세포의 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 특허 가출원 제62/128,979 호를 포함하나 이에 제한되지 않는 미국 특허, 미국 특허 출원 공보, 미국 특허, 외국 특허, 외국 특허 출원 및 비특허 문헌들은 그 전체가 여기에 참조로서 포함된다. 추가적인 구현예를 제공하기 위해 다양한 특허, 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.

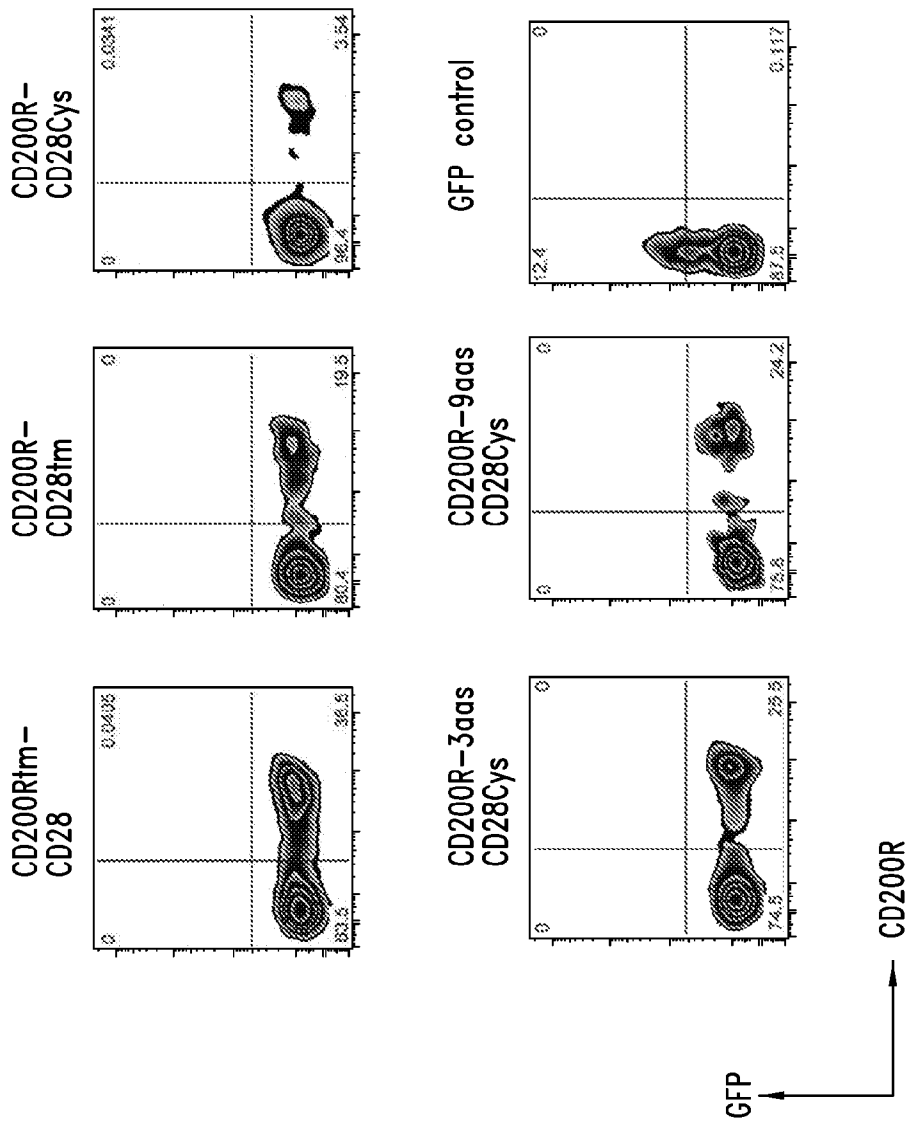
## 도면

### 도면1a

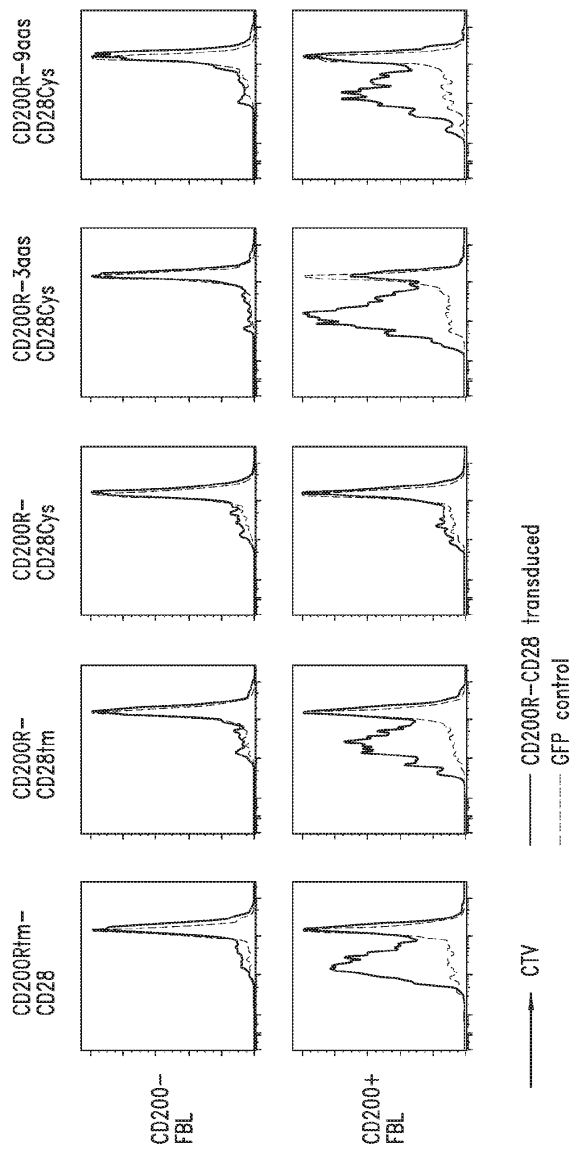




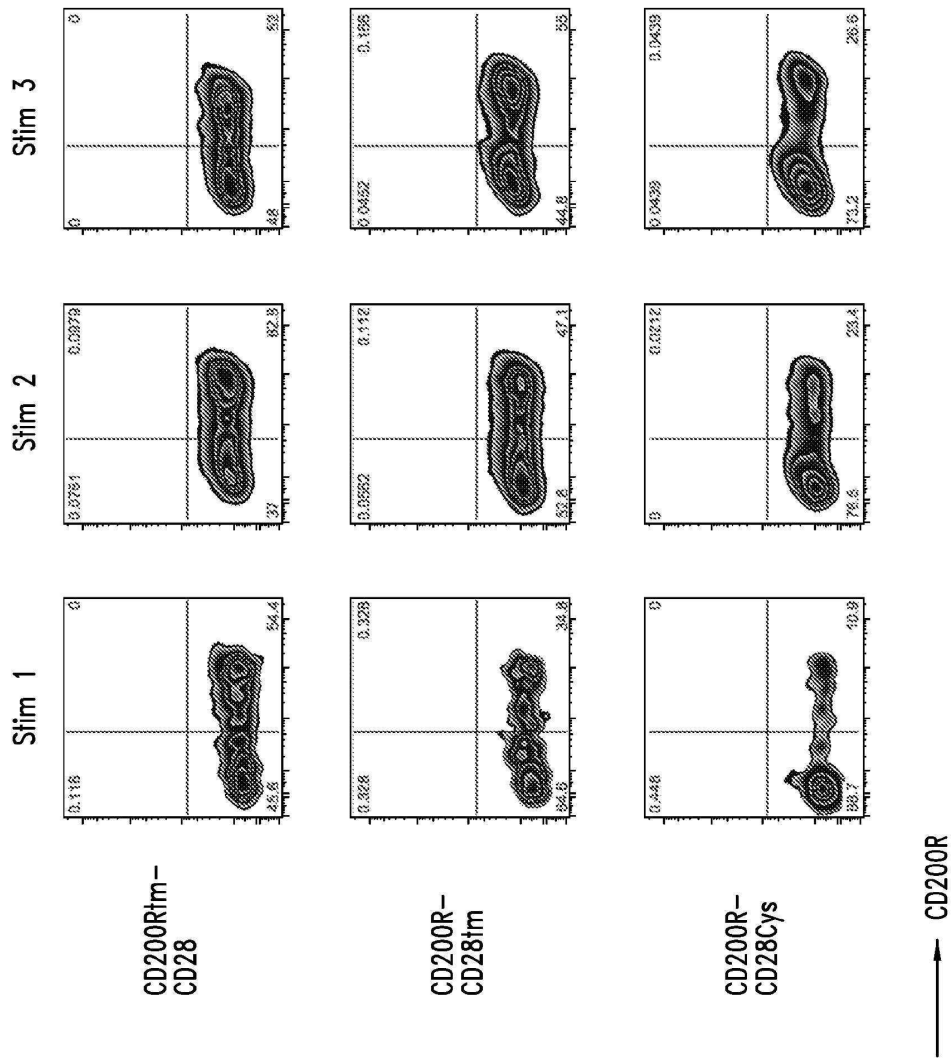
도면1b



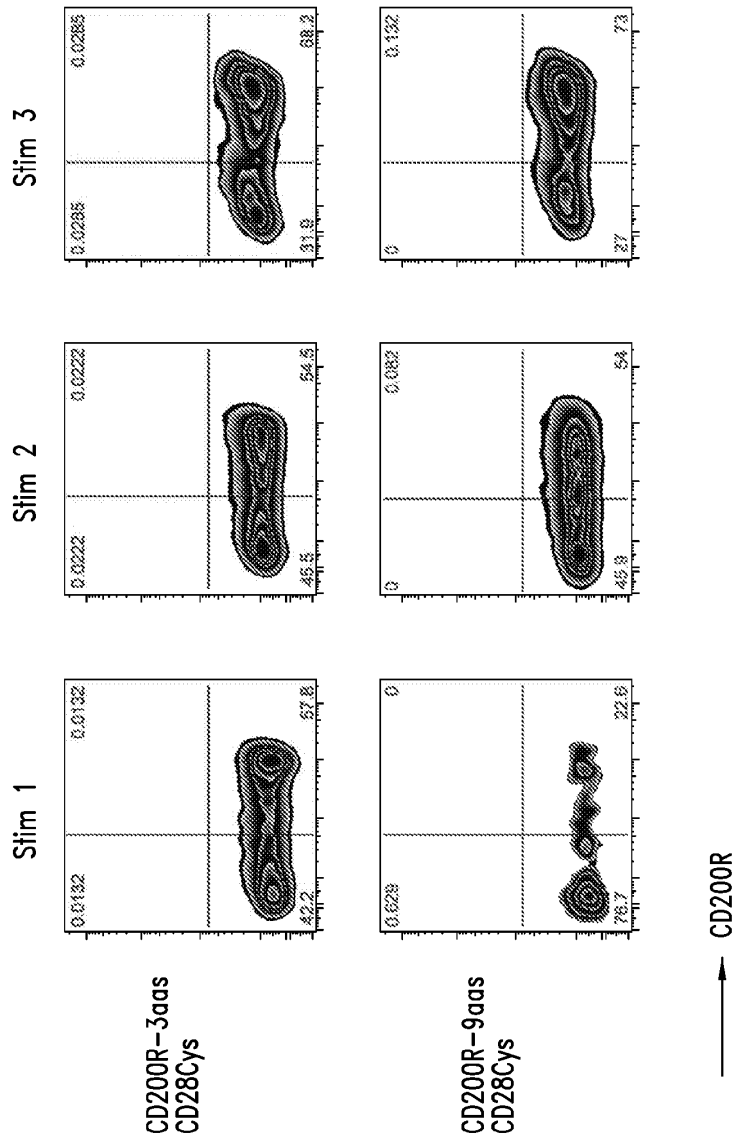
도면2a



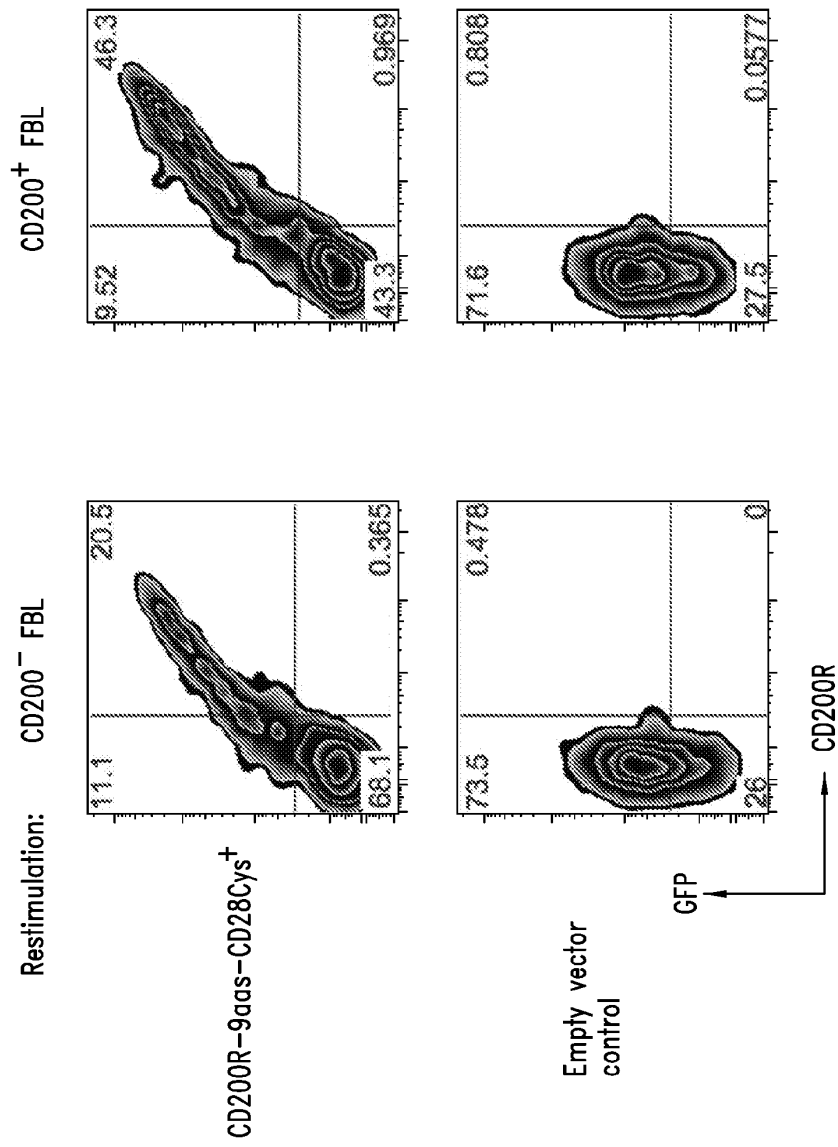
도면2ba



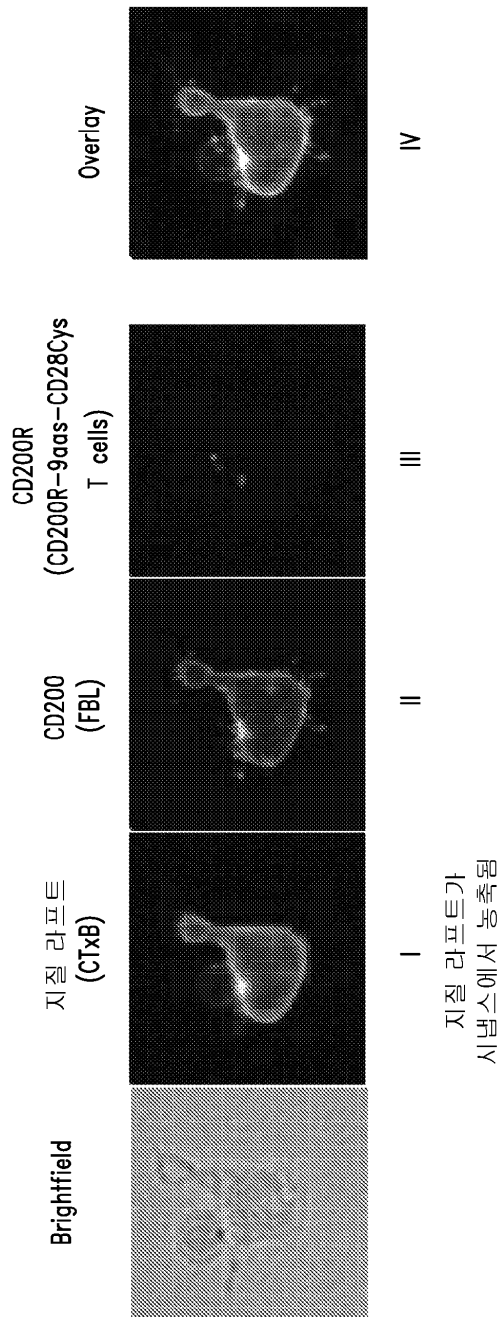
도면2bb



도면2c



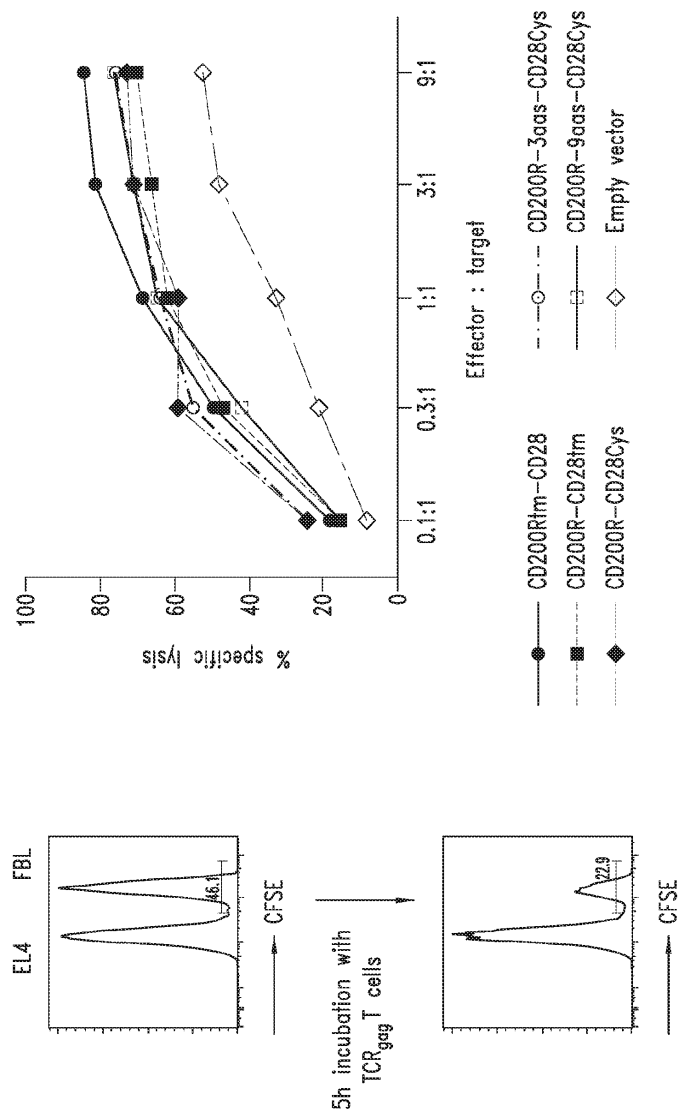
도면2d



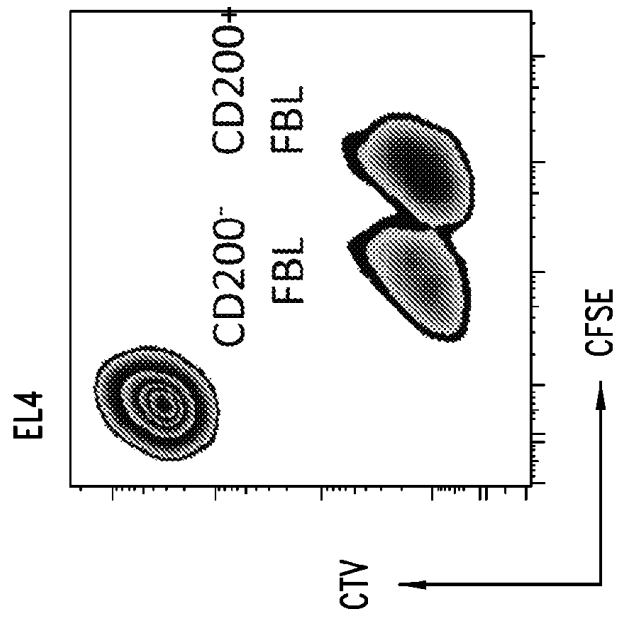
10X, DeltaVision



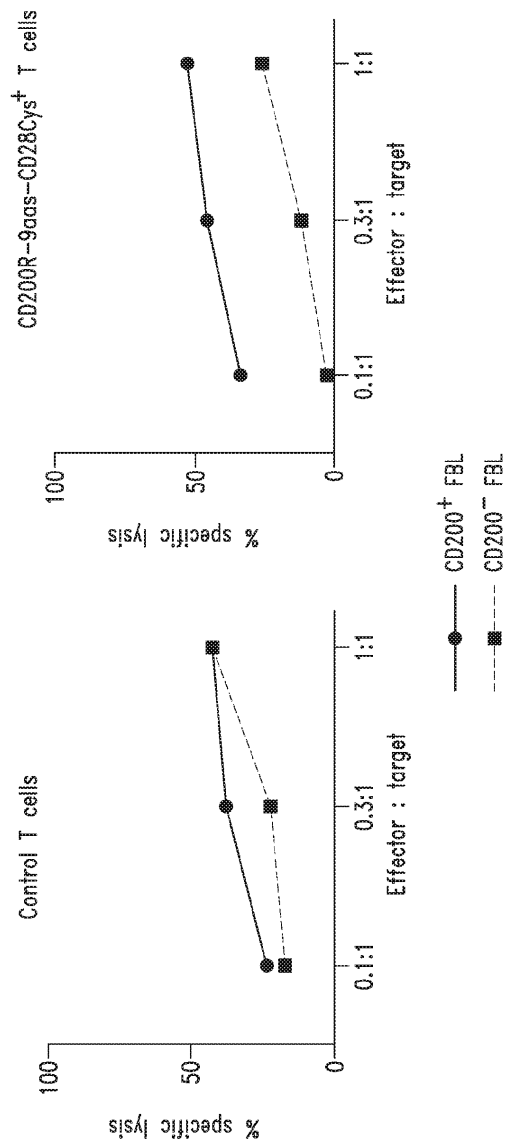
도면2e



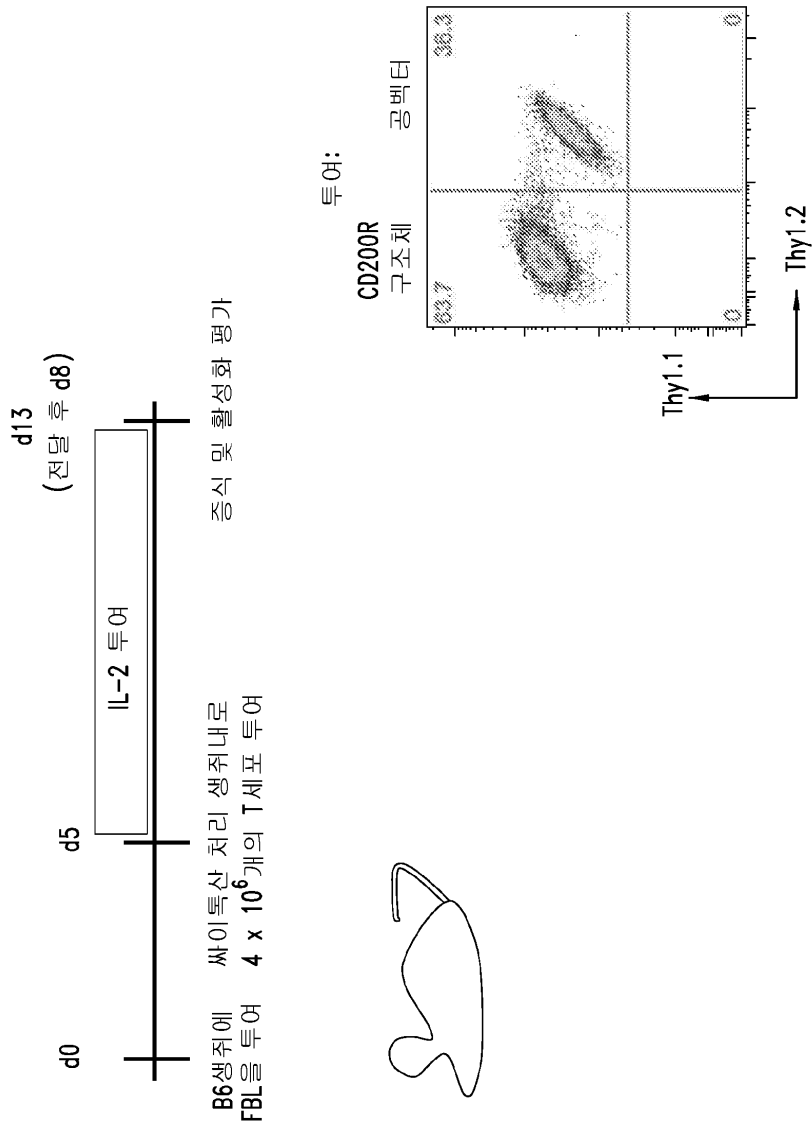
도면2f



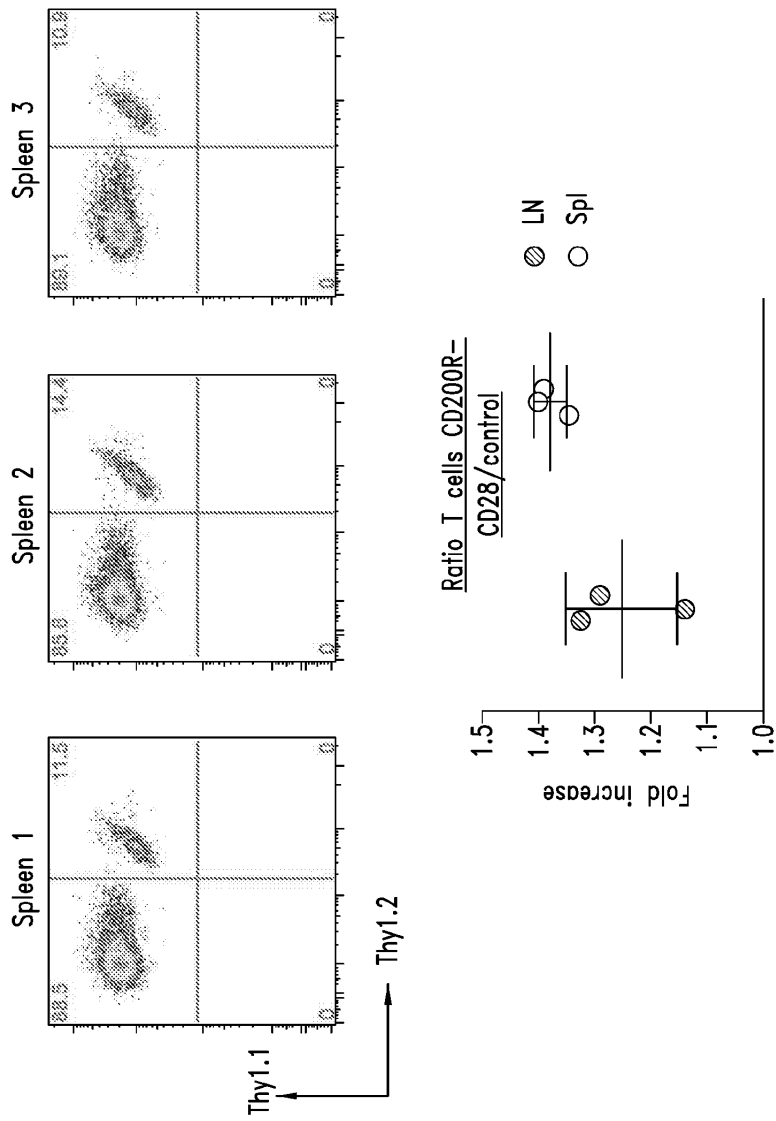
도면2g



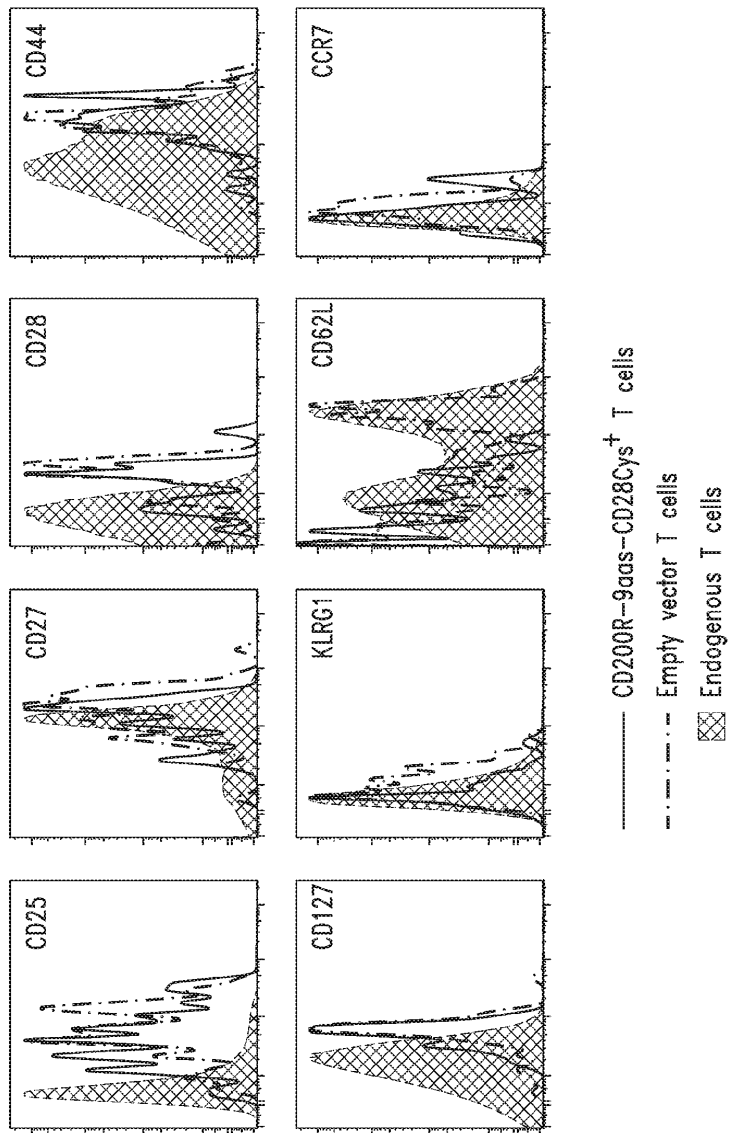
도면3a



도면3b

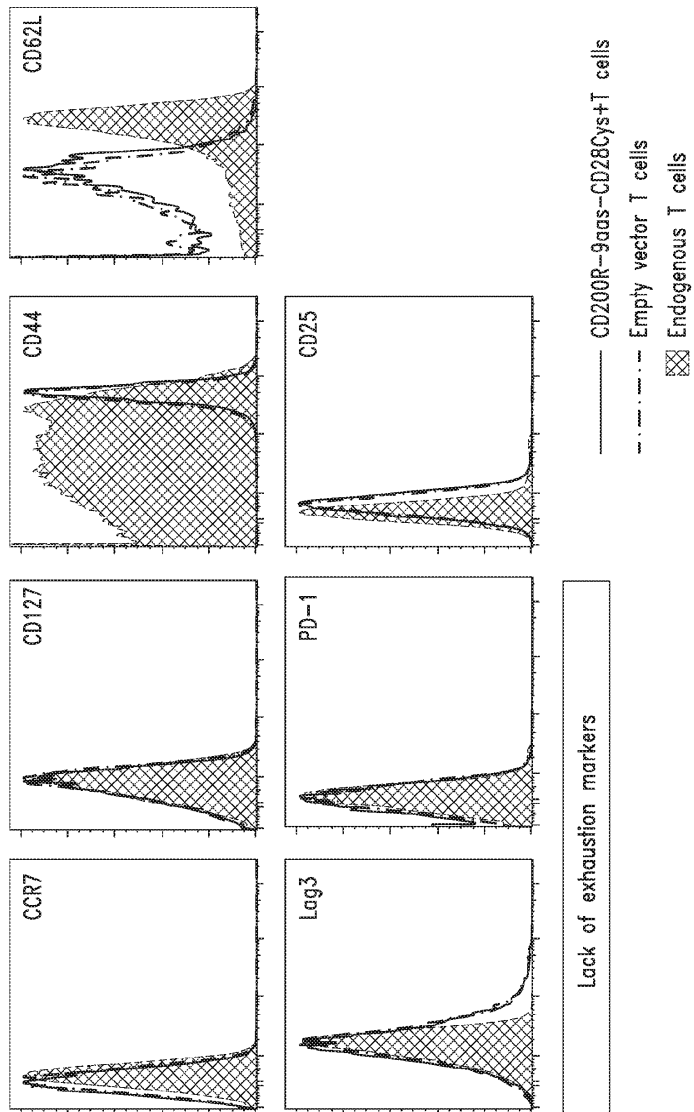


도면3c

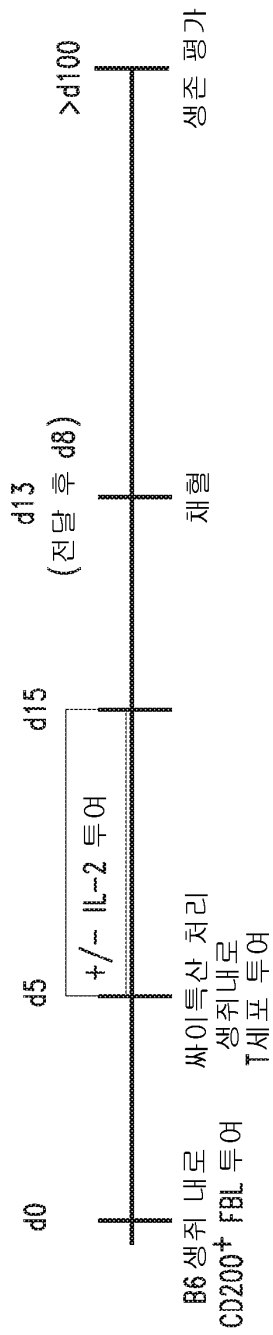




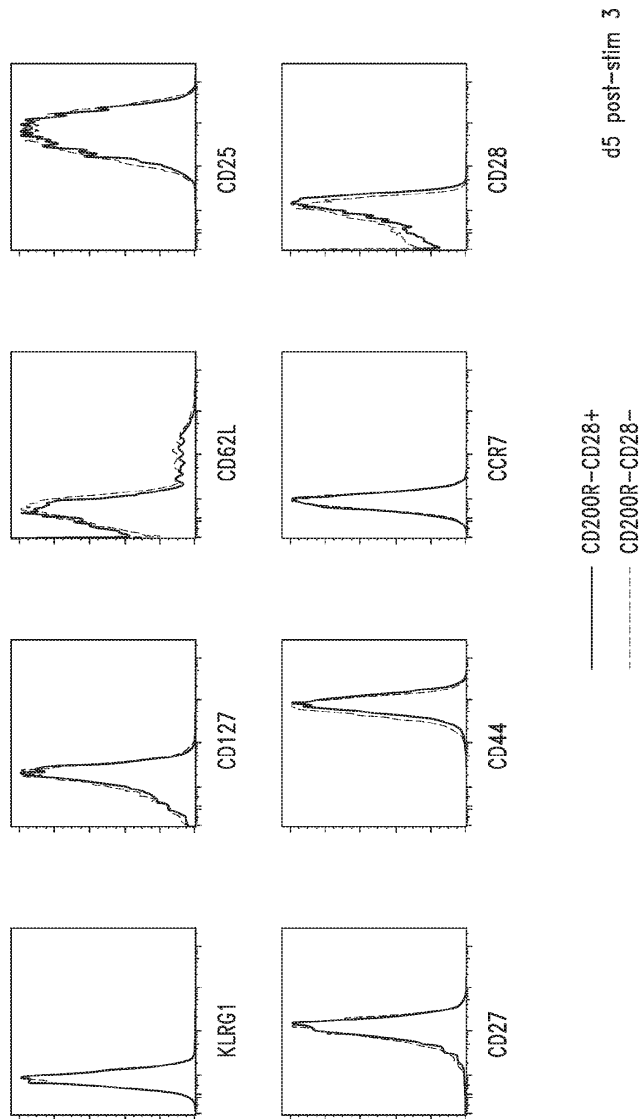
도면3d



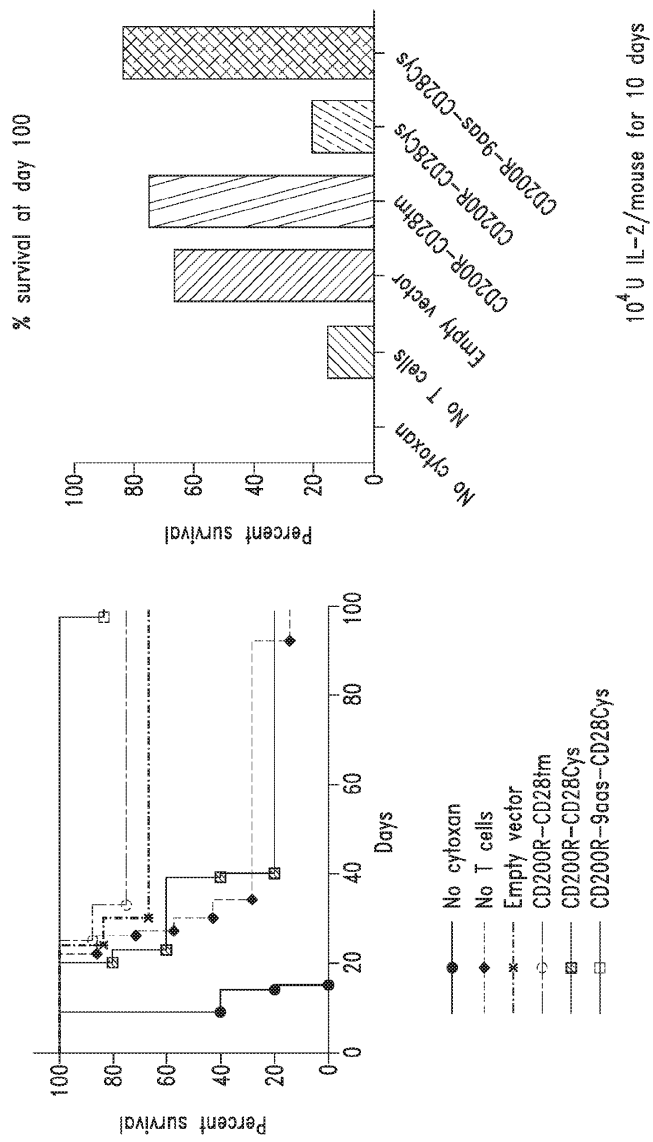
도면4a



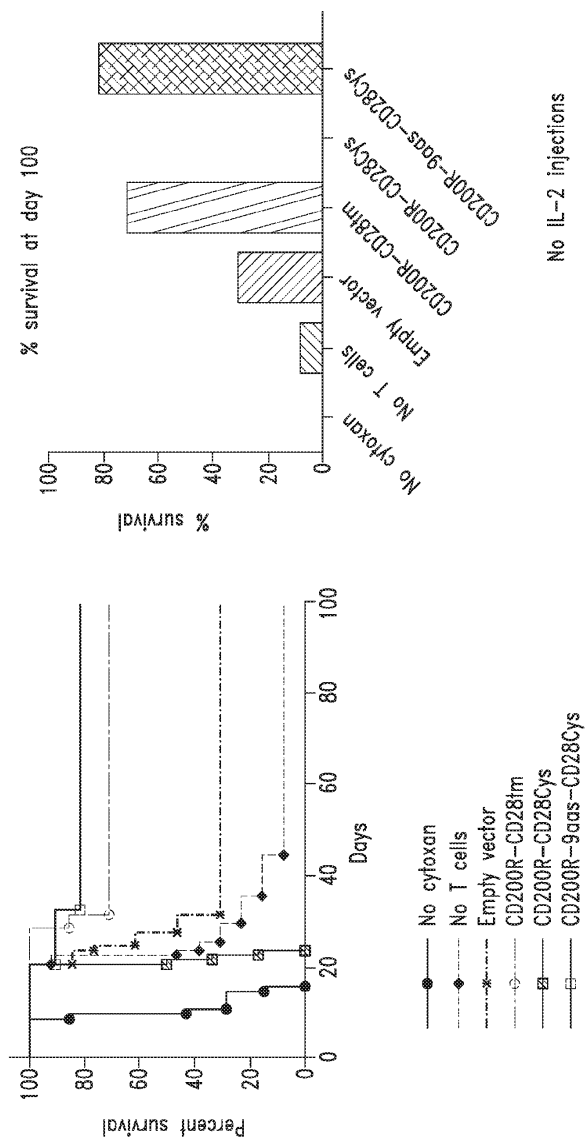
도면4b



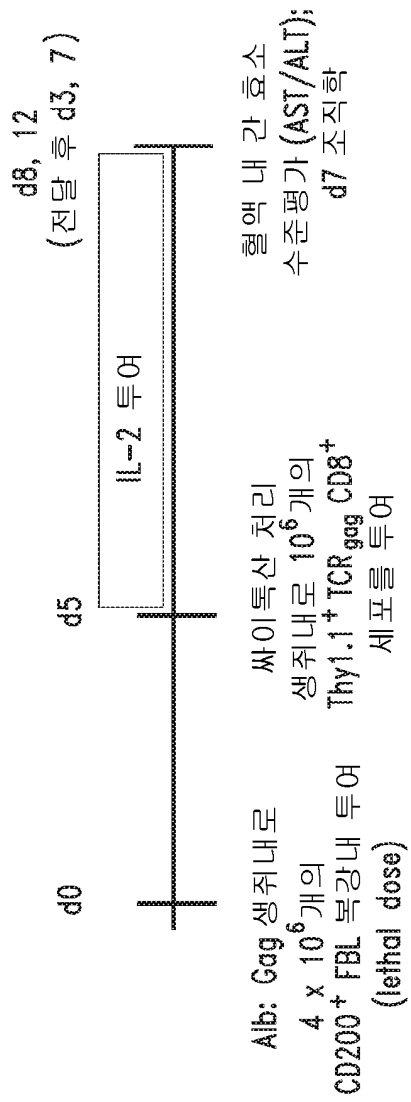
도면4c



도면4d

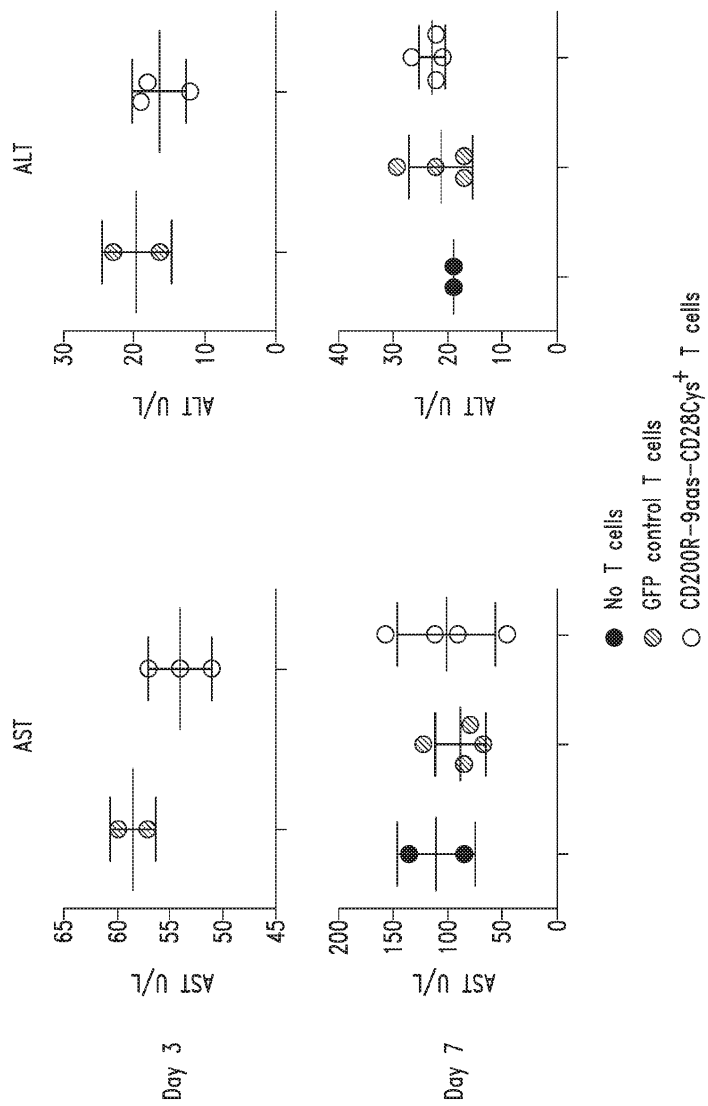


도면5a

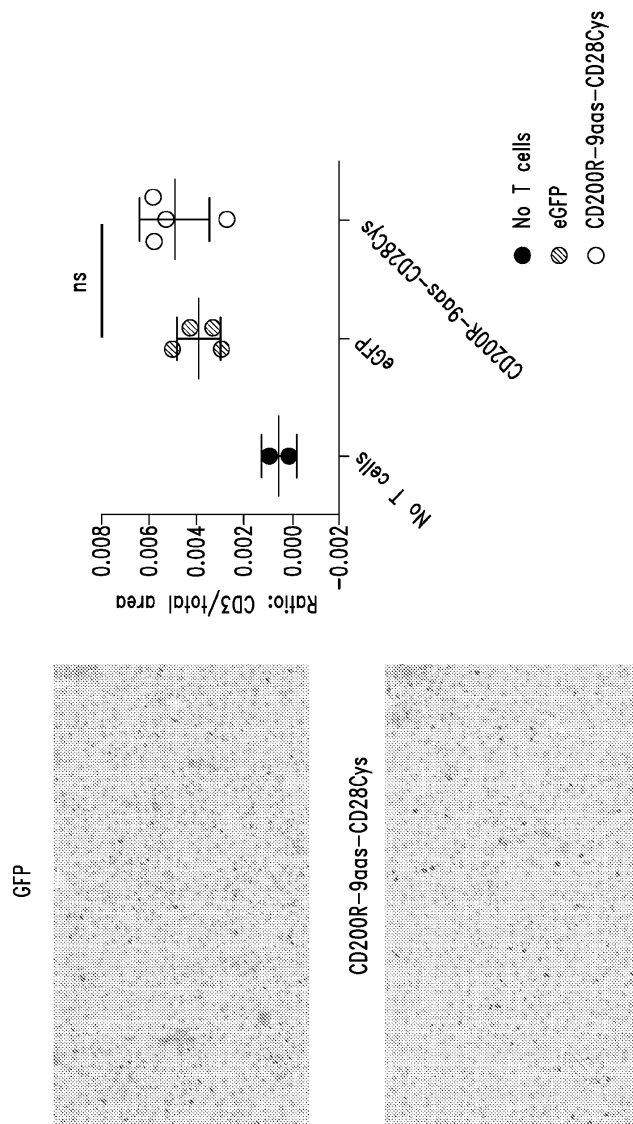




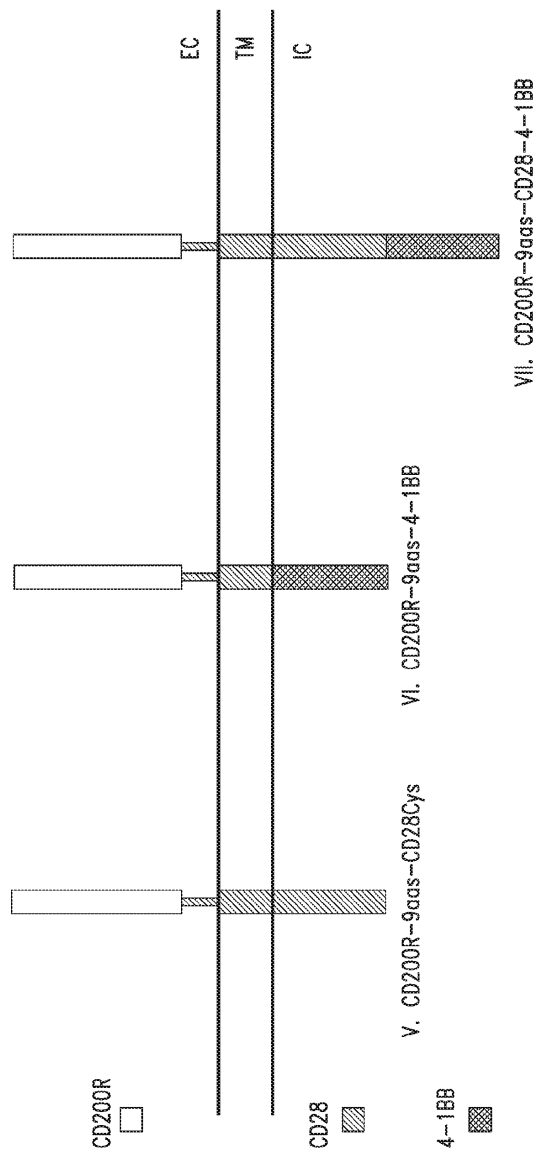
도면5b



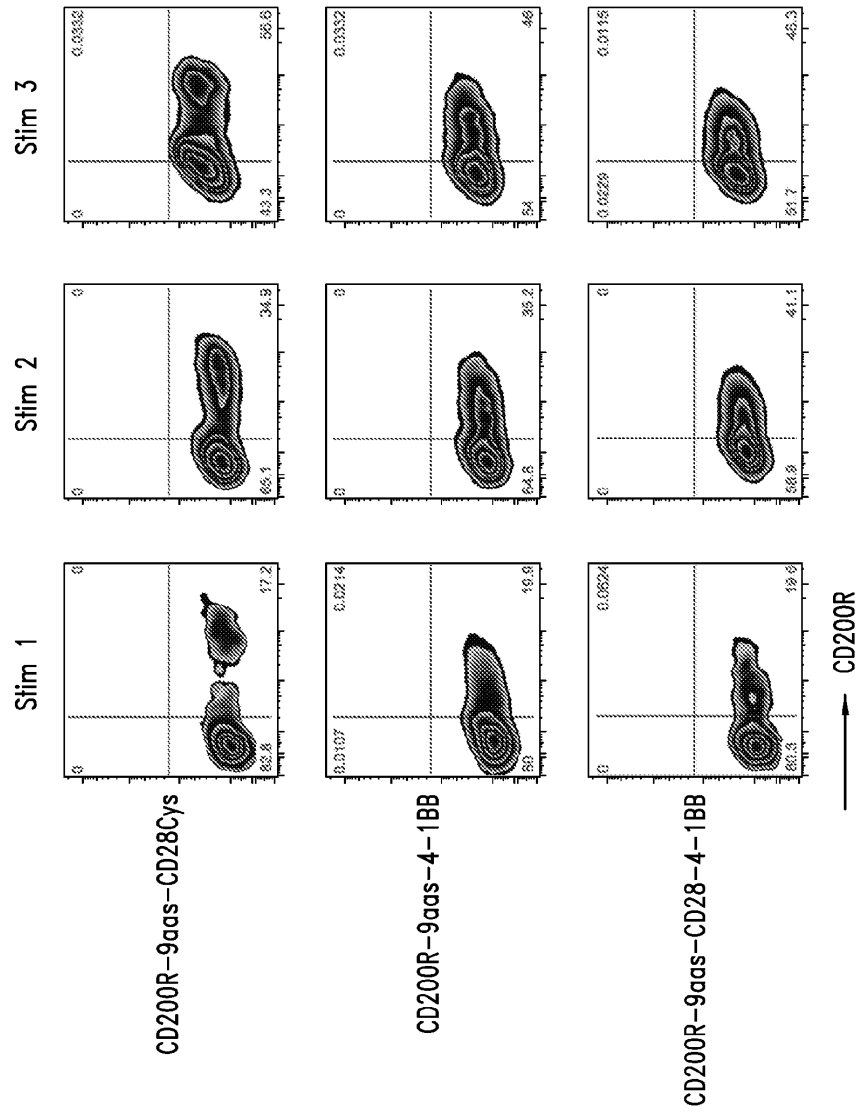
도면5c



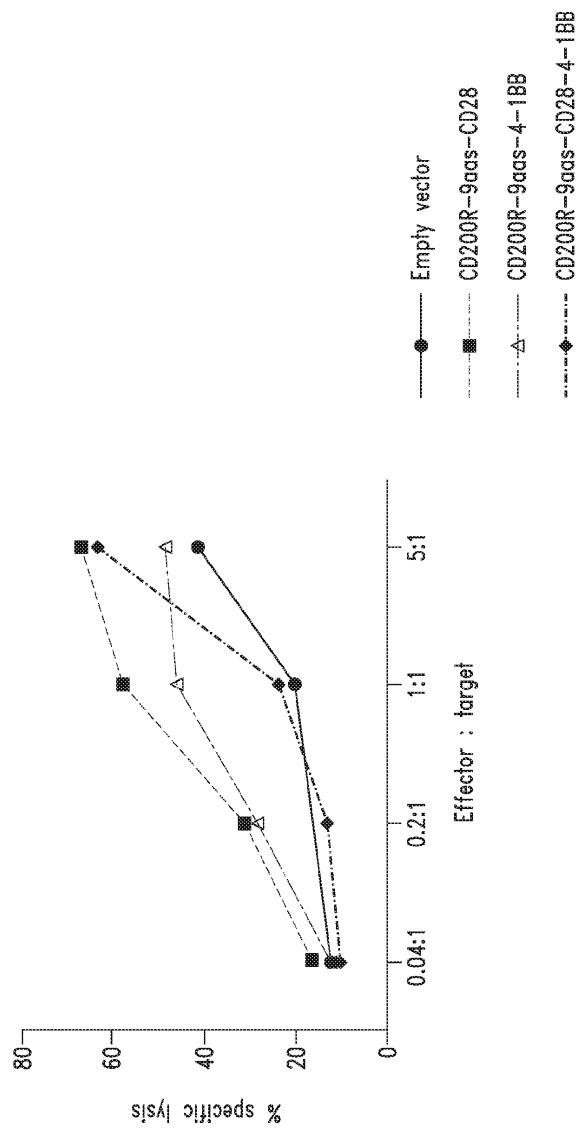
도면6a



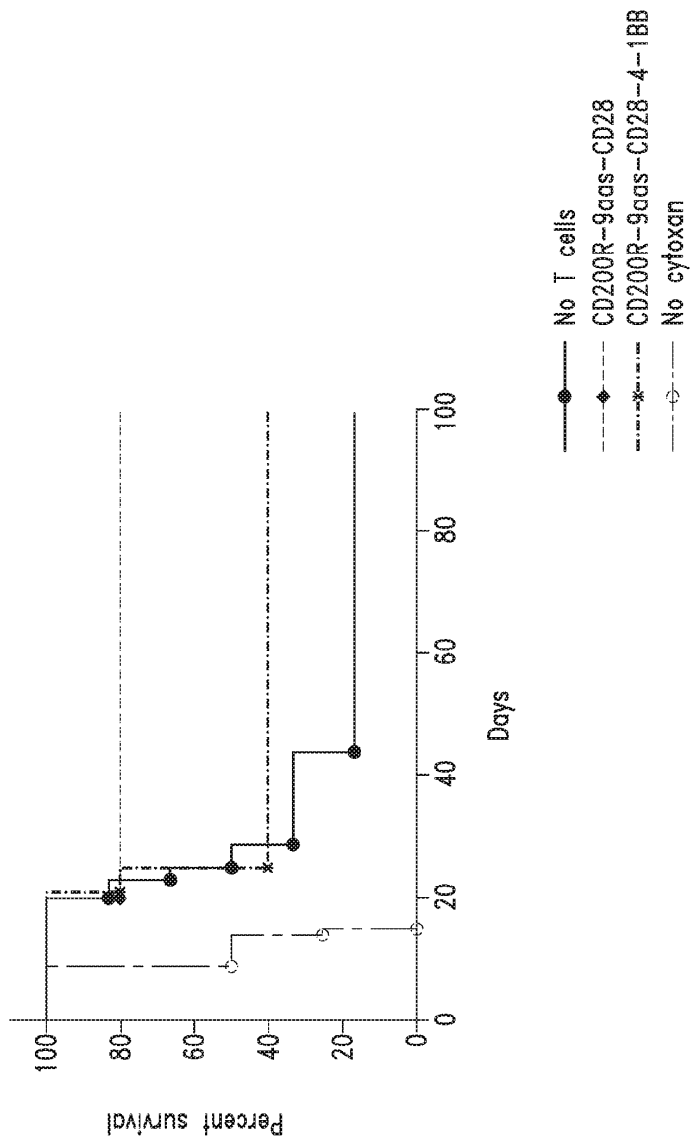
도면6b



도면6c

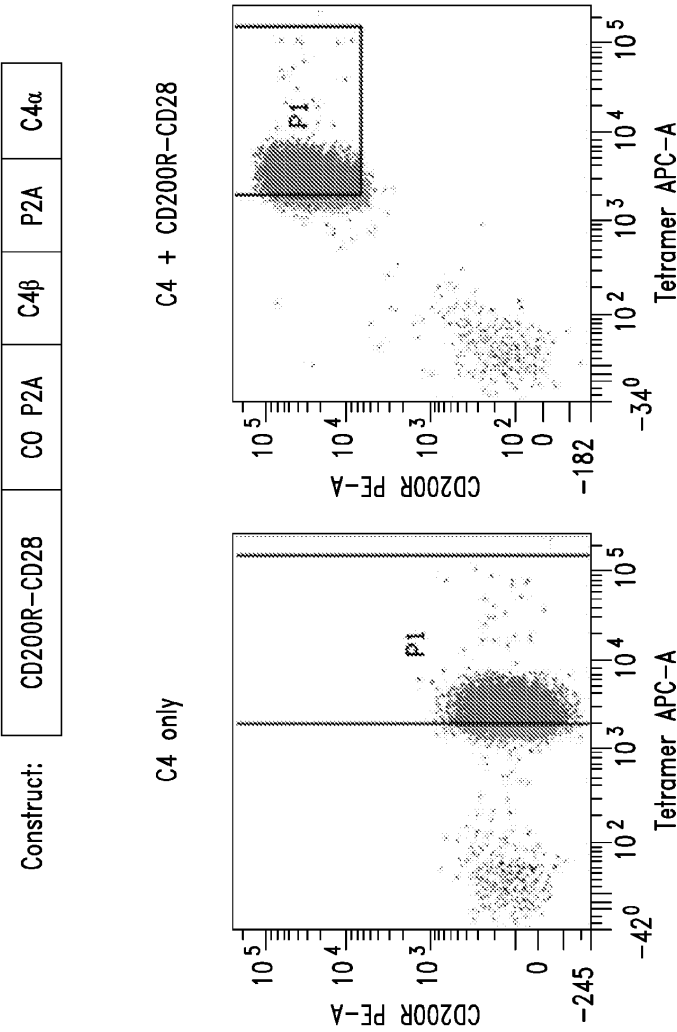


도면6d

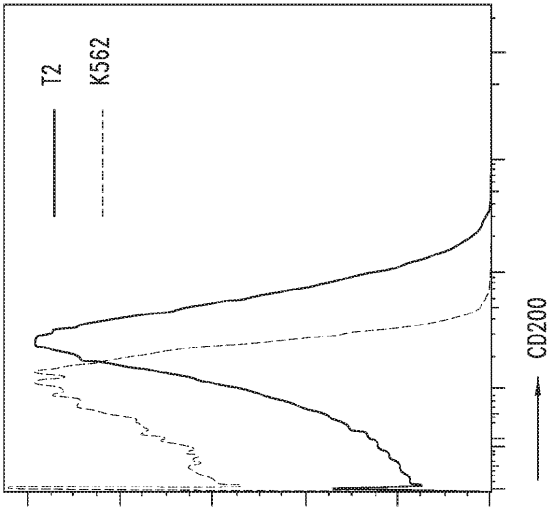




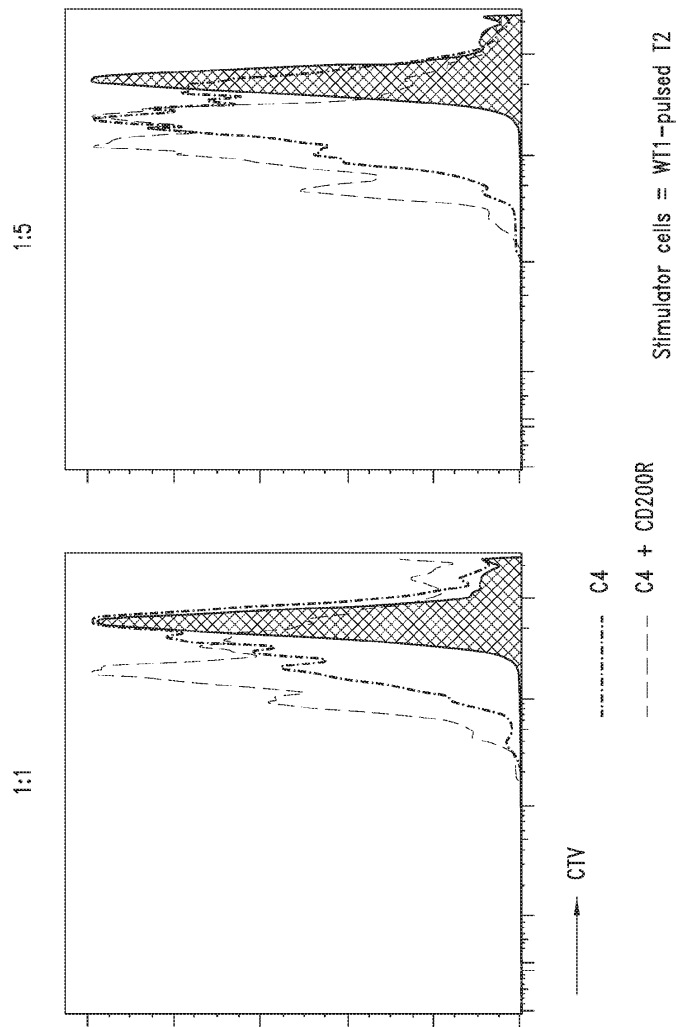
도면7a



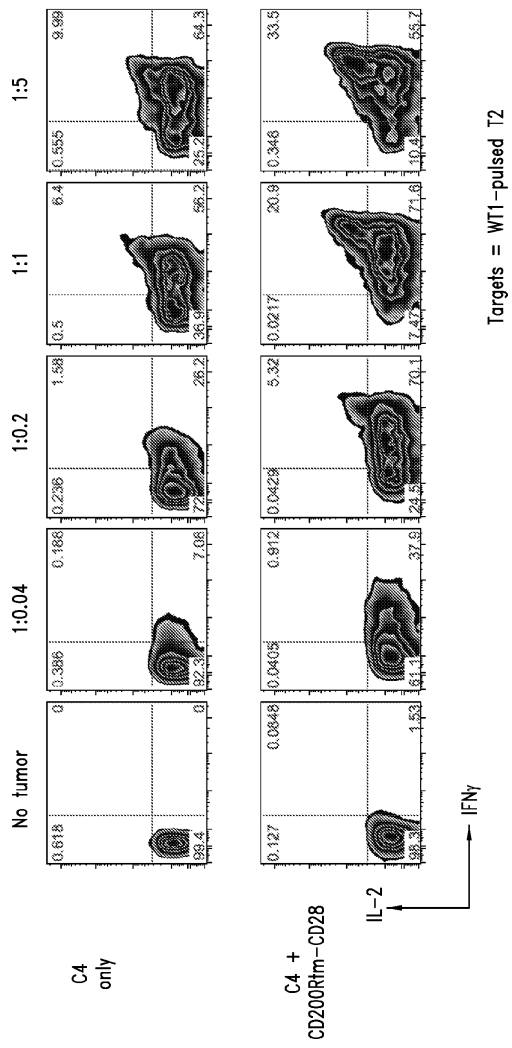
도면7b



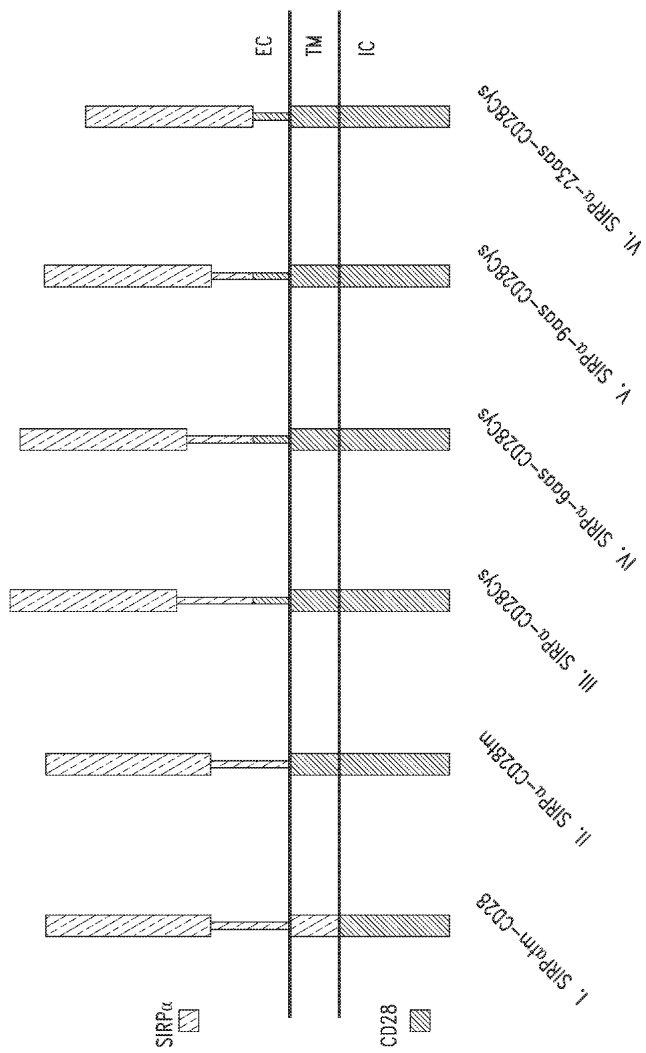
도면7c



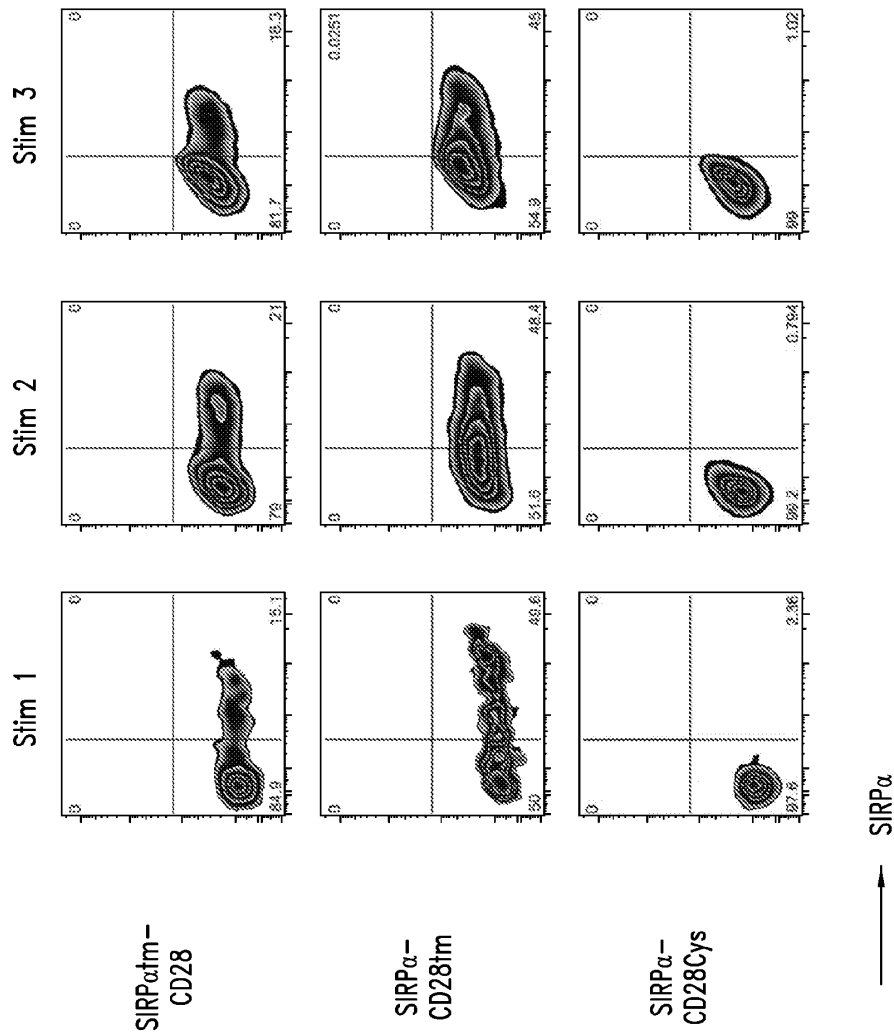
도면7d



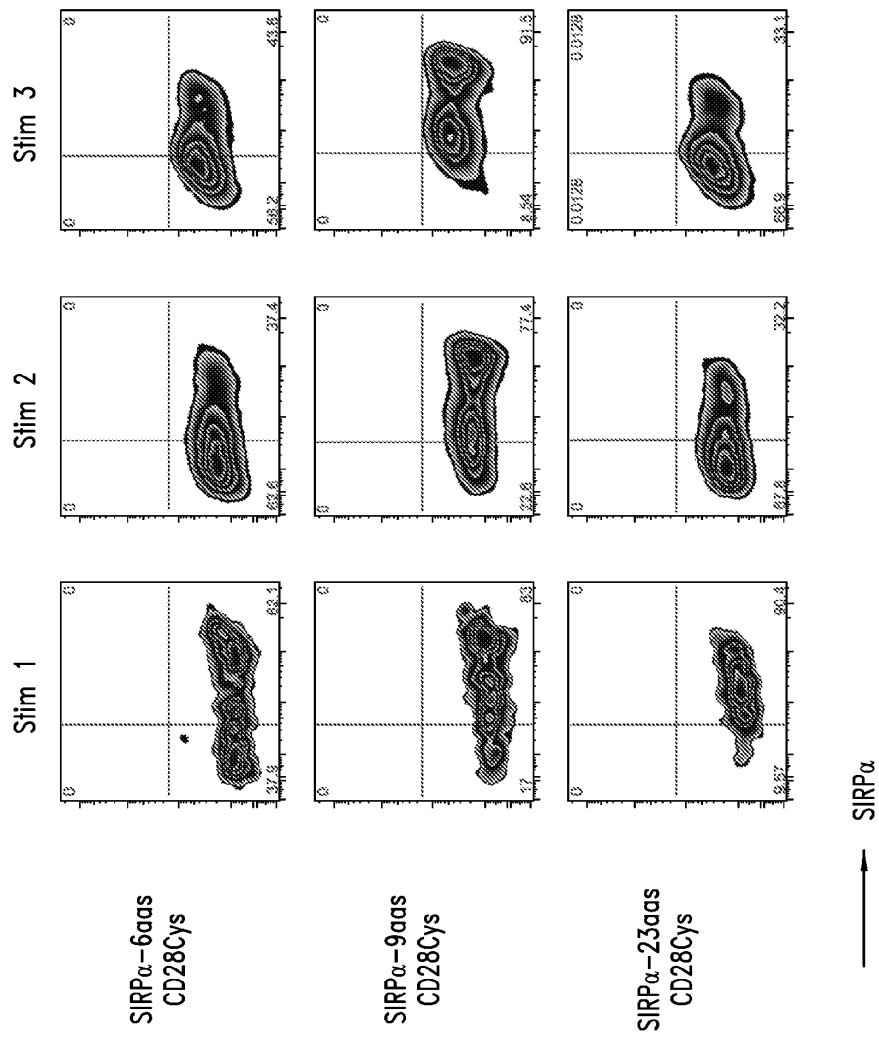
도면8a



도면8ba

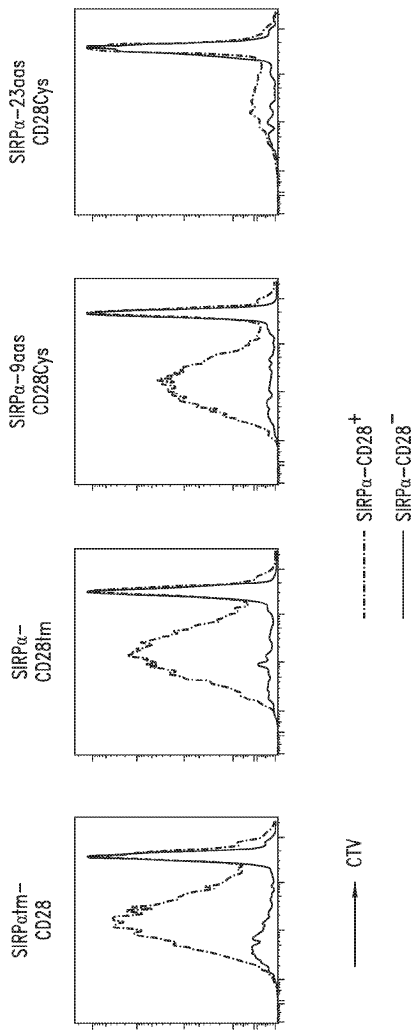


도면8bb

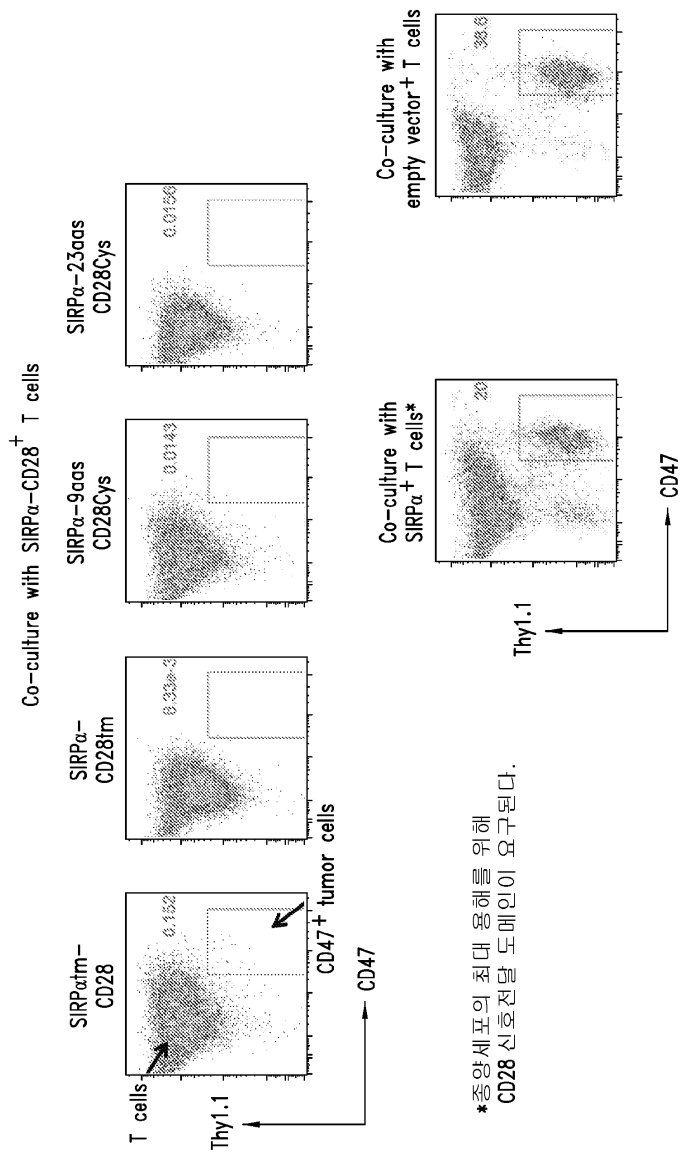




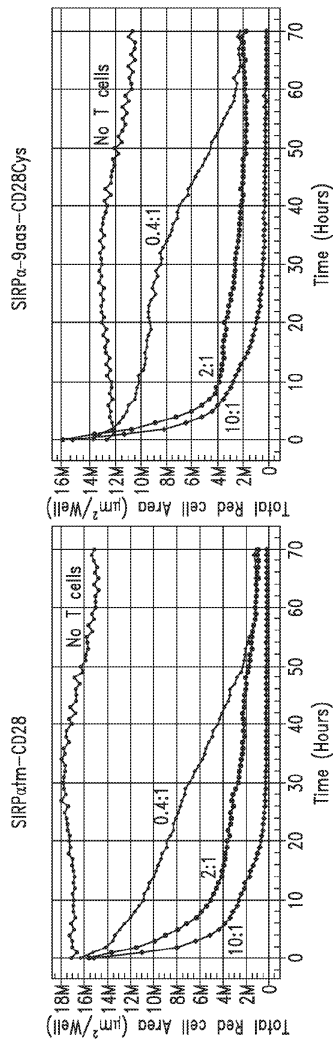
도면8c



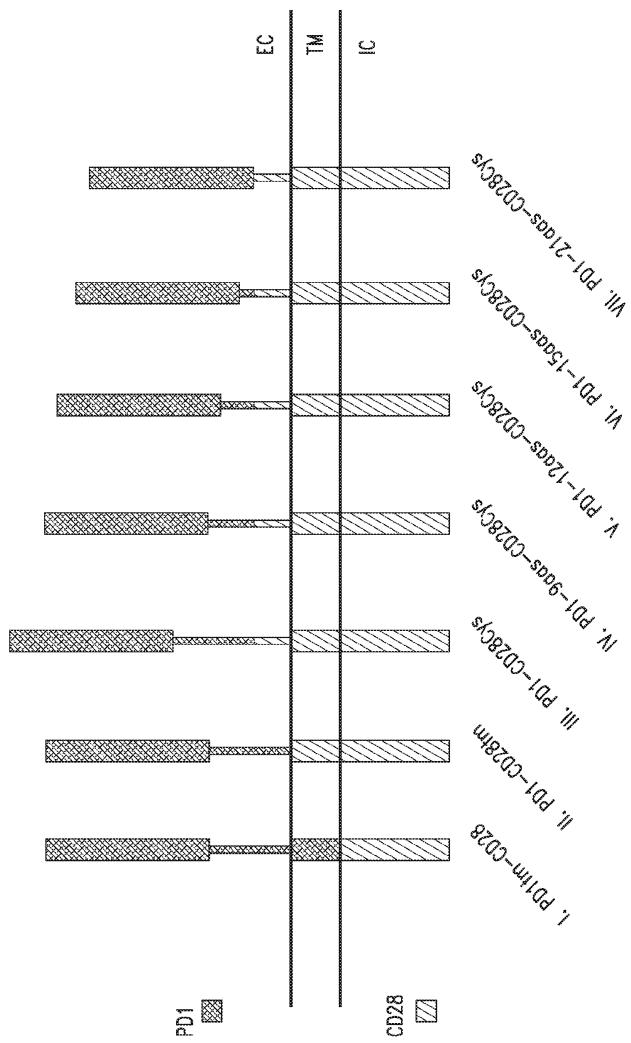
도면8d



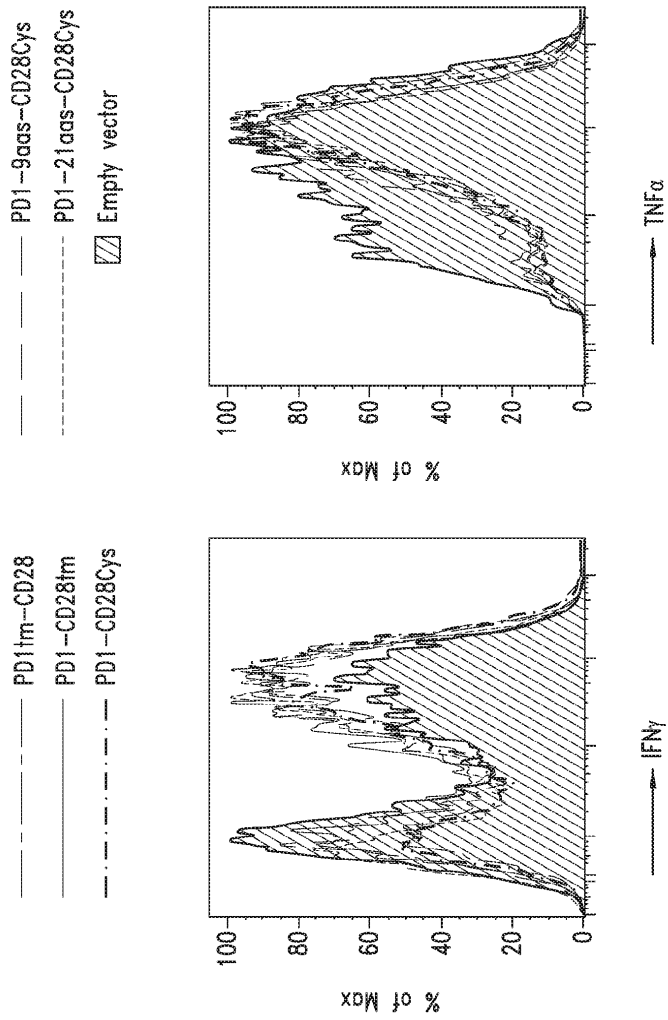
도면8e



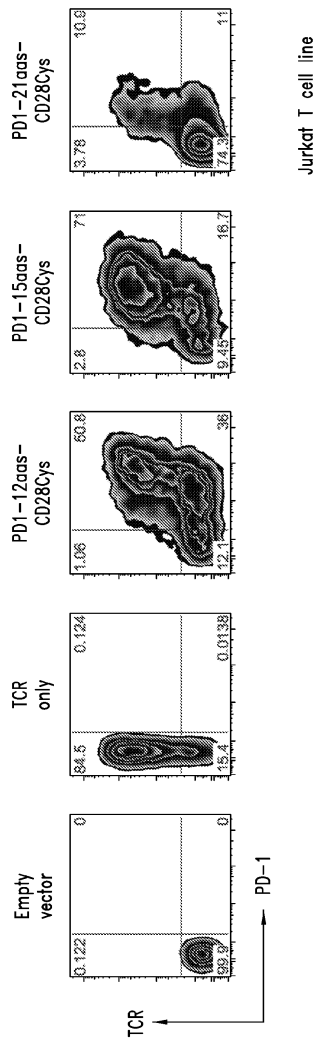
도면9a



도면9b

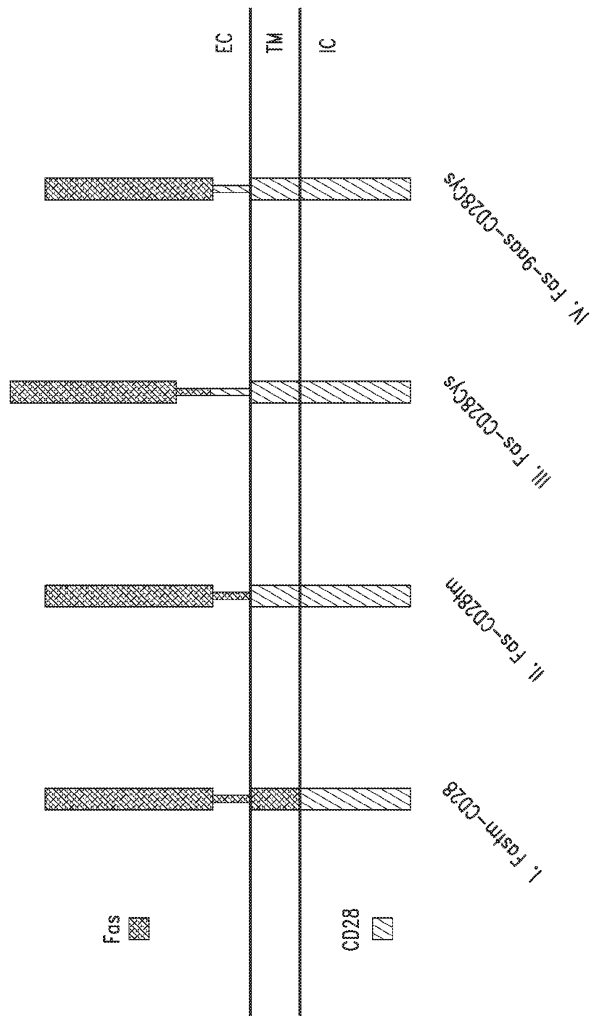


도면10

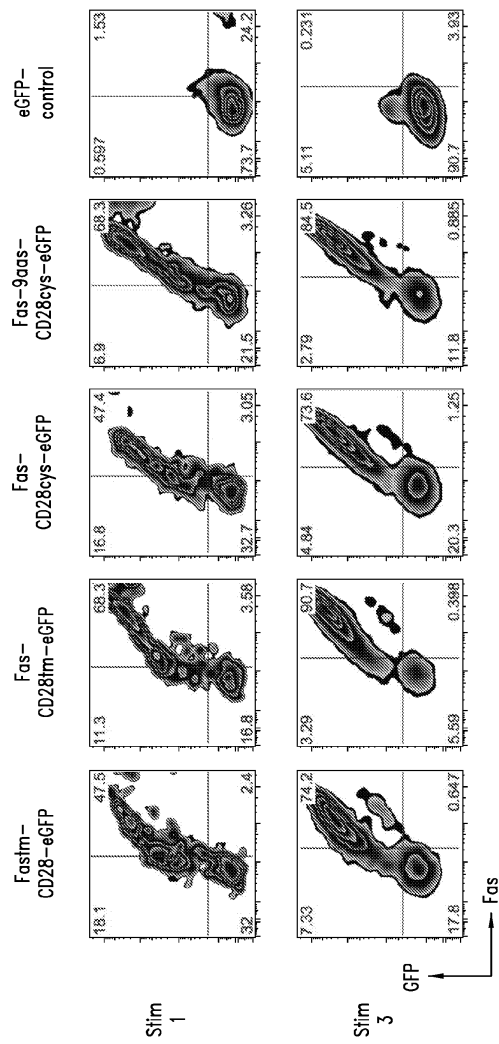




도면11a

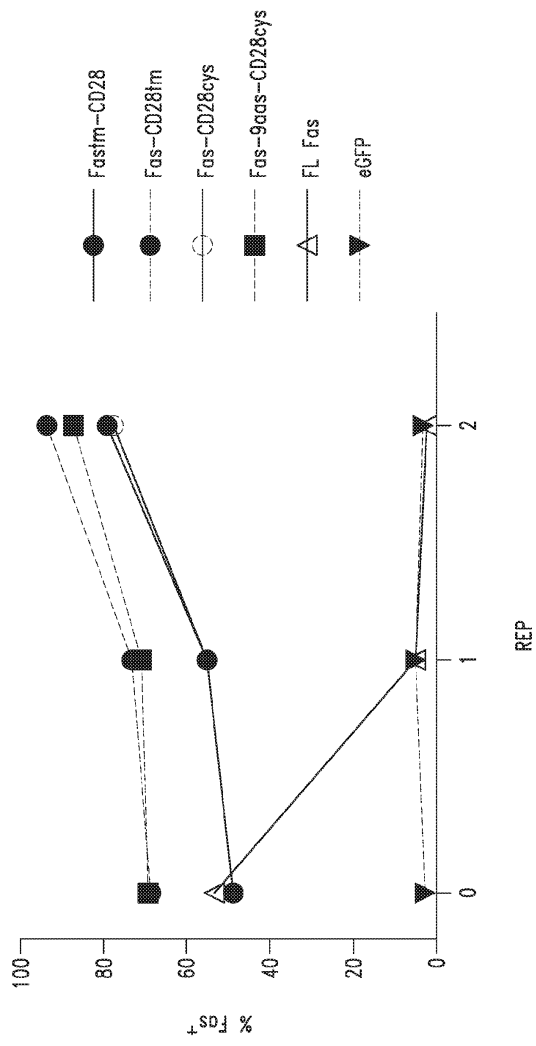


도면11b

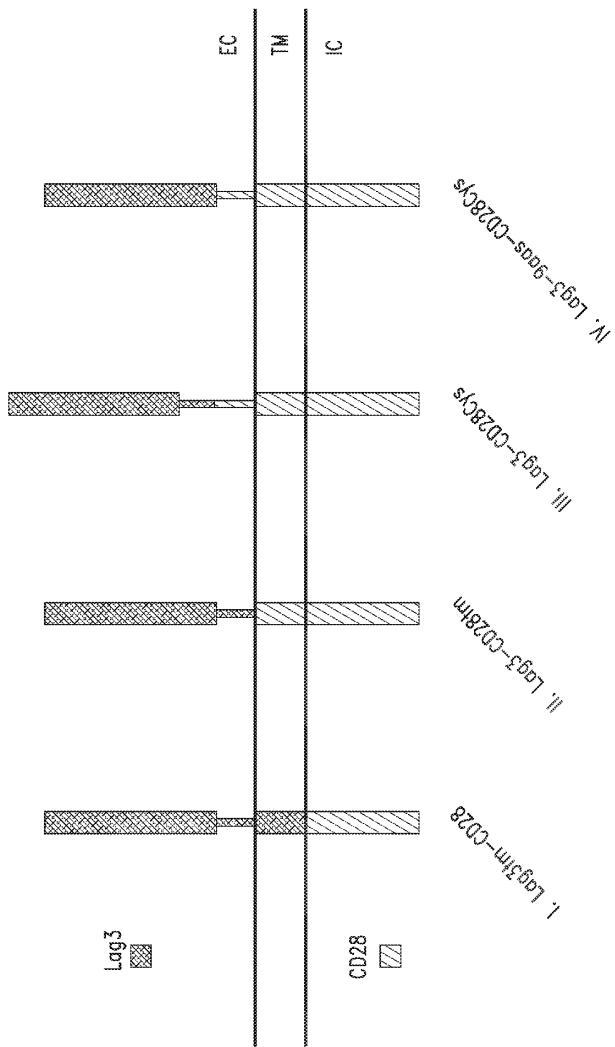


Transduced TCRgag T cells, 5 days post-stimulation

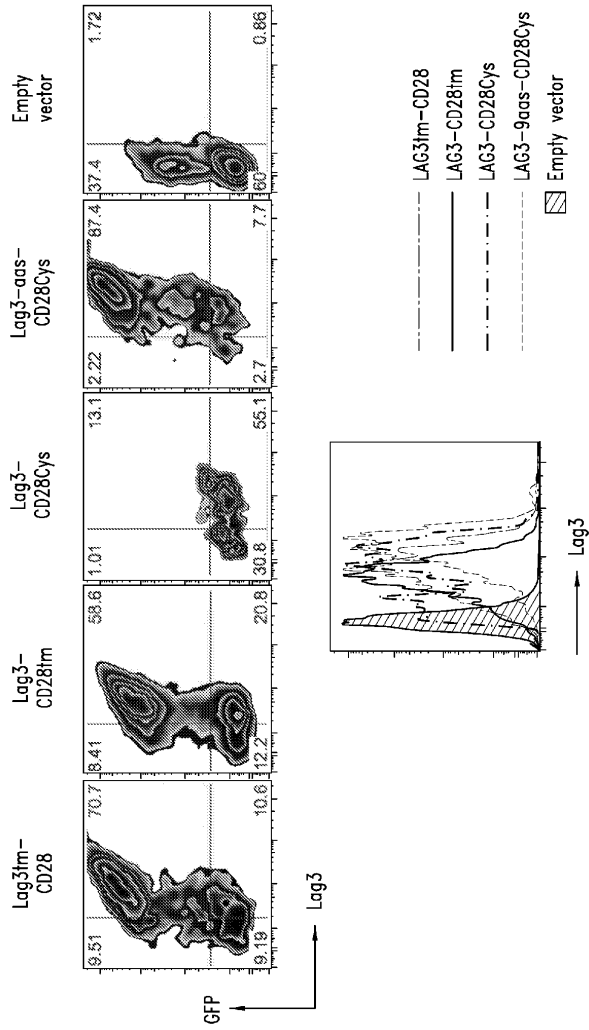
도면11c



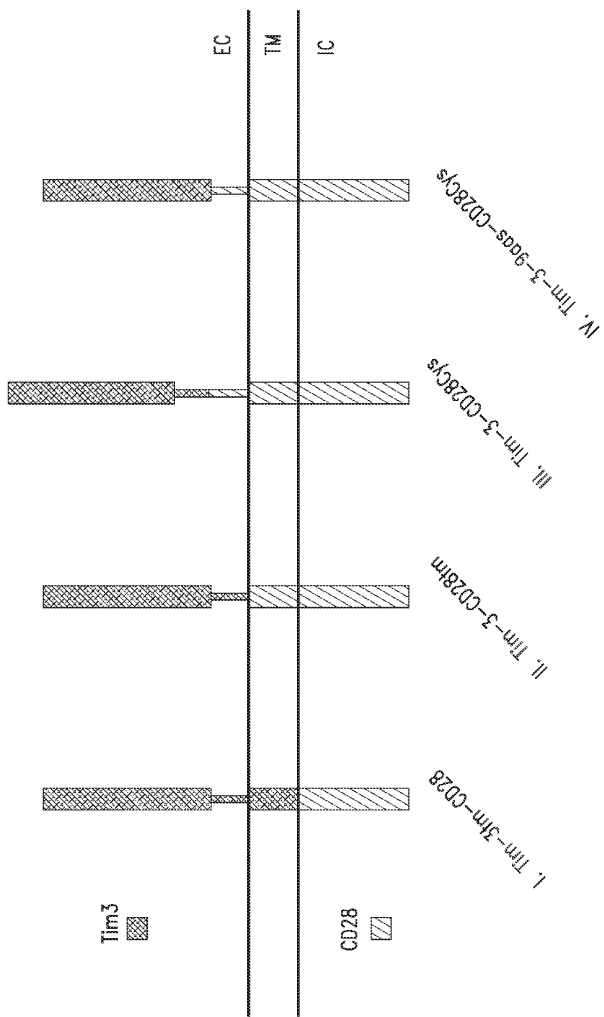
도면12a



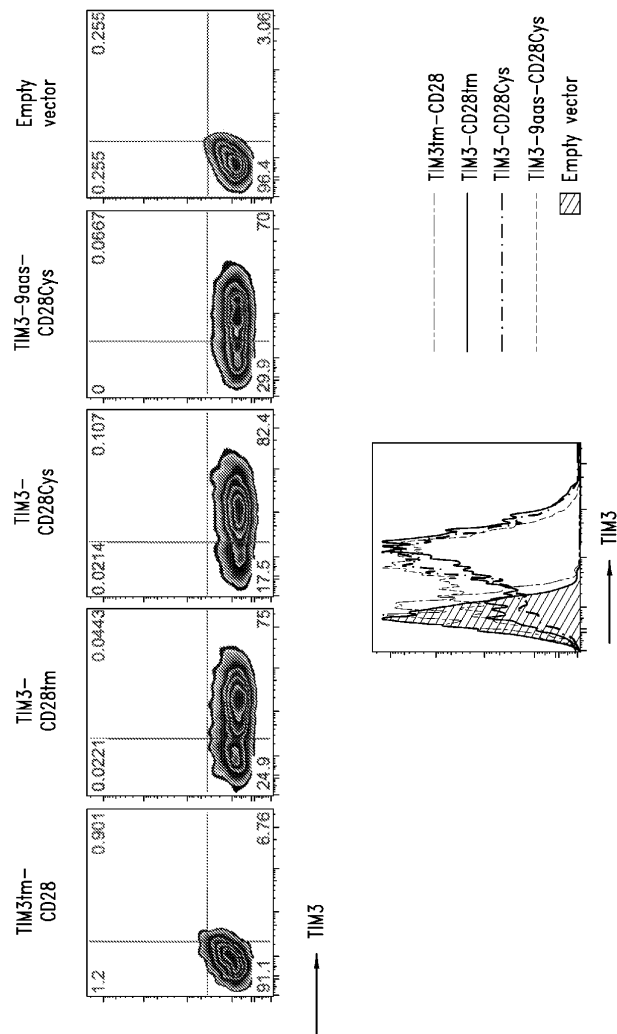
도면12b



도면13a



도면13b



## 서열 목록

### SEQUENCE LISTING

<110> Fred Hutchinson Cancer Research Center

Oda, Shannon K.

Greenberg, Philip D.

<120> IMMUNOMODULATORY FUSION PROTEINS AND

USES THEREOF

<130> 360056.433WO

<140> PCT

<141> 2016-03-04

<150> US 62/128,979

<151> 2015-03-05

<160> 178

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0



<210> 1

<211> 915

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200Rtm-CD28 construct

<400> 1

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtctgc tgatcctgac catcttcctg 60

gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180

tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcaccacga cggtactac cgtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgtc gtgaccccc aagtgacct gttccagaac 480

cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgacctg 600

aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgctggcgc caagaagtec 720

gccaaactgt acatccccta catcatcctg acaatcatca ttctgacct cgtgggcttc 780

atctggctgc tgcgcagcaa gcggagcaga ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc 840

cctagacggc ctggccccac cagaaagcac taccagccct acgcccctcc ccgggacttt 900

gccgcctaca gaagc 915

<210> 2

<211> 728

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R entire extracellular domain

<400> 2

tgctgtgccc ttggagaacc gccaacctgg gcctgtgtct gatcctgacc atcttcctgg 60

tggccgcccag cagcagcctg tgcatggacg agaagcagat caccagaaac tacagcaagg 120

tgctggccga agtgaacacc agctggcccg tgaagatggc caccaacgcc gtgctgtgct	180
gccctcctat cgccctgcgg aacctgatca tcatcacctg ggagatcatc ctgcggggcc	240
agcccagctg taccaaggcc taccggaaag agacaaacga gacaaaagaa acaaactgca	300
ccgacgagcg gatcacatgg gtgtccagac ccgaccagaa cagcgacctg cagatcagac	360
ccgtggccat caccacgac ggctactacc ggtgcatcat ggtcaccccc gatggcaact	420
tccaccgggg ataccatctg caggtgctcg tgacccccga agtgacctg ttccagaacc	480
ggaacagaac cgccgtgtgc aaggccgtgg ccggaaaacc tgccgcccag atctcttgga	540
tccccgaggg cgattgcgcc accaagcagg aatactggtc caacggcacc gtgaccgtga	600
agtccacctg tcactgggag 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 tcgtgggctt catctggctg	60
ctg	63
<210> 4	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> CD28 transmembrane domain	
<400> 4	
ttctgggtgc tgggtgggtg cggaggcgtg ctggcctgct acagcctgct ggtcacctg	60
gccttcatca tcttttgggt c	81
<210> 5	
<211> 123	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28 intracellular domain

<400> 5

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

<210> 6

<211> 933

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-CD28tm construct

<400> 6

atgctgtgcc ctiggagaac cgccaacctg ggcctgctgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggcgc aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga acaaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccgtggcca tcaccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac	420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtaccct gtccagaaac	480
cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
atccccgagg gcgattgctc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgcctggcgc caagaagtcc	720
gccaagctgt tctgggtgct ggtggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg	780
gtcacctgg ctttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc	840

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

<210> 7

<211> 942

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-9aas-CD28Cys construct

<400> 7

```

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtctgc tgatcctgac catcttcctg      60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag      120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc      180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc      240

cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga acaaaactgc      300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga ccgaccaga acagcgacct gcagatcaga      360
cccgtggcca tcaccacga cggtactac cgtgcatca tggtcacccc cgatggcaac      420
ttccaccggg gatacatct gcaggtgtc gtgaccccc aagtaccct gttccagaac      480
cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg      540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg      600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac      660

ctgaccgcca acaagagcct gtacatcgag ctgtgcctg tgtgtcccag ccctctgttt      720
cccggccta gcaagccttt ctgggtgtc gtggtggtcg gaggcgtgct ggcctgctac      780
agcctgctgg tcaccgtggc cttcatcatc ttttgggtcc gcagcaagcg gagcagaggc      840
ggccacagcg actacatgaa catgaccct agacggcctg gcccaccag aaagcactac      900
cagccctacg cccctcccc ggactttgcc gcctacagaa gc      942

```

<210> 8

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-9aas portion of extracellular domain

<400> 8

```

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtctgc tgatcctgac catcttcctg      60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag      120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc      180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc      240

```

cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaag gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300  
 accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360  
 cccgtggcca tcaccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420

ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480  
 cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaagac ctgccgcca gatctcttgg 540  
 atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660  
 ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgctg tg 702

<210> 9  
 <211> 36  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> CD28Cys multimerization domain  
 <400> 9  
 tgtccagcc ctctgtttcc cggccctagc aagcct 36

<210> 10  
 <211> 933  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> huCD200R-12aas-CD28Cys construct  
 <400> 10  
 atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg 60  
 gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag 120  
 gtgtgtggcc aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180  
 tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240  
 cagcccagct gtaccaaggc ctaccggaag gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300  
 accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360

cccgtggcca tcaccacga cggctactac cggtgcatca tggtcacccc cgatggcaac 420  
 ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480  
 cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaagac ctgccgcca gatctcttgg 540

atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660  
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct 720  
agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780

gtcaccgtgg ctttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 840  
gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 900  
gccccctccc gggactttgc cgcctacaga agc 933

<210> 11

<211> 693

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-12aas portion of extracellular domain

<400> 11

atgctgtgcc ctiggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg 60  
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag 120

gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc 180  
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc 240  
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc 300  
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360  
cccgtggcca tcaccacga cggctactac cgtgtcatca tggtcacccc cgatggcaac 420  
ttccaccggg gataccatct gcaggtgtc gtgacccccg aagtaccct gttccagaac 480  
cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg 540

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

<210> 12

<211> 945

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic construct

<400> 12

atgctgtgcc ctggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggcgc aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgatc atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccgtggcca tcaccacga cggctactac cgtgtcatca tggtcacccc cgttggaac	420
ttccaccggg gataccatct gcaggtgtc gtgacccccg aagtgacct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgacctg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgctgcctg tgtgtccag ccctctgttt	720
cccggcccta gcaagccttt ctgggtgtg gtggtggtcg gagcgtgct ggctgtctac	780
agcctgtgg tcaccgtggc cttcatcatc tttgggtca agcggggcag aaagaagctg	840
ctgtacatct tcaagcagc tttcatgcgg cccgtgcaga ccaccagga agaggacggc	900
tgctctgca gattccccga ggaagaagaa ggcggctgcg agctg	945

<210> 13

<211> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 4-1BB intracellular component

<400> 13

aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gccctgcag	60
accaccagc aagaggacgg ctgctcctgc agattcccc aggaagaaga aggcggctgc	120
gagctg	126

<210> 14

<211> 936

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>



<223> huCD200R-12aas-CD28Cys tm-41BBic construct

<400> 14

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga acaaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360
cccgtggcca taccacaga cggctactac cgtgtcatca tggtcacccc cgatggcaac	420
ttccaccggg gataccatct gcaggtgtct gtgacccccg aagtgacct gttccagaac	480
cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccgaaaac ctgccgcca gatctcttgg	540
atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgacctg	600
aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac	660
ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggcct	720
agcaagcctt tctgggtgct ggtgtgtgtc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg	780
gtcaccgtgg ctttcatcat cttttgggtc aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc	840
ttcaagcagc ctttcatcgc gcccggtcag accaccagg aagaggacgg ctgctcctgc	900
agattccccg aggaagaaga aggcggctgc gagctg	936

<210> 15

<211> 1059

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-12aas-CD28Cys tm ic-41BBic construct

<400> 15

atgctgtgcc cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga acaaaactgc	300
accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga	360

cccgtggcca tcacccacga cggctactac cggatgcata tggcacccc cgatggcaac 420  
 ttccaccggg gataccatct gcaggtgctc gtgacccccg aagtgaccct gttccagaac 480  
 cggaacagaa ccgccgtgtg caagcccggt gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540  
 atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcc a cgtgtccac 660

ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgtccca gccctctgtt tcccggccct 720  
 agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggc ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg 780  
 gtaccgtgg ctttcatcat cttttgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 840  
 gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 900  
 gcccctcccc gggactttgc cgcctacaga agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac 960  
 atcttcaagc agcctttcat gcggcccggt cagaccaccc aggaagagga cggctgctcc 1020  
 tgcagattcc ccgaggaaga agaaggcggc tgcgagctg 1059

<210> 16

<211> 1305

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRPalphatm-CD28 construct

<400> 16

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60  
 gcctcttgtg cttggagcgg agtggtctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac 120  
 aagagcgtgc tggtagccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg 180  
 atccccgtgg gccccatcca gtggtttaga ggctgtggcc ctggcagaga gctgatctac 240  
 aaccagaaag agggccactt cccagagtg accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac 300  
 aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcaccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420  
 gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtgtgtg ctggacctgc cgccagagct 480  
 acacctcagc acaccgtgc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540  
 accctgaagt gggtcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600  
 gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gaccccgaa 660  
 gatgtgcaca gccaaagtgat ctgcgaggtg gccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgtccc ccacctgga agtgaccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccattcca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctaca tcgtcgtggg cgtcgtgtgc 1140

accctgtcgg tggcactgct gatggccgct ctgtacctcg tgcgcagcaa gcggagcaga 1200

ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc cctagacggc ctggcccccac cagaaagcac 1260

taccagccct acgcccctcc ccgggacttt gccgcctaca gaagc 1305

<210> 17

<211> 1119

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha entire extracellular domain

<400> 17

atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccagc 120

aagagcgtgc tggtagccgc tggcgaaacc gccacctga gatgtacagc caccagcctg 180

atccccgtgg gcccattcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt cccagagtg accacctgtt ccgacctgac caagcggaa 300

aacatggact tcagcatccg gatcggaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtgggtgt gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgagggt gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg 720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgtccc ccacctgga agtgaccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgaa gttctacccc 840

cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900

accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacctg 960

tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc 1020

gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccattcca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctac 1119

<210> 18

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha transmembrane domain

<400> 18

atcgtcgtgg gcgtcgtgtg 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 tectggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60

gcctcttgtg ctiggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccagc 120

aagagcgtgc tggtagccgc tggcgaaacc gccacctga gatgtacgc caccagcctg 180

atccccgtgg gcccattcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240

aaccagaaag agggccactt cccagagtg accacctgt cggacctgac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcaccctg ccgatgccgg cacctactac 360

tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccgcgacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480

acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccaag gcttcagccc cagagacatc 540

accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600

gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa 660

gatgtgcaca gccaaagtgat ctgcgagggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg	720
agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgtccc ccacctgga agtgaccag	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgga gttctacccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacctg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatcca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gccgccgaga acaccggcag caacgagcgg aacatctact tctgggtgct ggtggtggtc	1140
ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgtctg gtcacctgg cttcatcat cttttgggtc	1200
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacgcct	1260
ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga	1320
agc	1323
<210> 20	
<211> 1323	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha 12aas-CD28Cys construct	
<400> 20	
atggaacctg ccgacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
gcctcttgtg ctgggagcgg agtggtctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccagc	120
aagagcgtgc tgggtggccgc tggcgaaacc gccacctga gatgtacagc caccagcctg	180
atccccgtgg gcccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
aaccagaaag agggccactt cccagagtg accacctgtt ccgacctgac caagcggaac	300
aacatggact tcagcatccg gatcggaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
tcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
acacctcagc acacctgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
accctgaagt gggtcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa	660
gatgtgcaca gccaaagtgat ctgcgagggtg gcccacgtga cactgcaggg cgatcctctg	720

agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgtccc ccacctgga agtgaccag 780  
 cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcgaa gttctacccc 840  
 cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc 900  
 accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacgtg 960  
 tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccagggtg aacacgacgg ccagcctgcc 1020  
 gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccattcca aagagcaggg ctccaacaca 1080

gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggtc 1140  
 ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcacctggg ccttcatcat cttttgggtc 1200  
 cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 1260  
 ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga 1320  
 agc 1323

<210> 21

<211> 1083

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha 12aas portion of extracellular domain

<

400> 21

atggaacctg ccggacctgc tcttggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc 60  
 gcctcttgtg cttggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccagc 120  
 aagagcgtgc tgggtggccg tggcgaaacc gccacctga gatgtacagc caccagcctg 180  
 atccccgtgg gcccattcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac 240  
 aaccagaaag agggccactt ccccagagt accacctgt cgcacctgac caagcggaaac 300  
 aacatggact tcagcatccg gatcggaac atcacccctg ccgatgccg cacctactac 360  
 tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc 420

gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct 480  
 acacctcagc acaccgtgtc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc 540  
 accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct 600  
 gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtgggtgct gaccccgaa 660  
 gatgtgcaca gccaaagtgt ctgcgaggtg gcccacgtga cactgcaggg cgtacctctg 720  
 agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgtccc ccacctgga agtgaccag 780

cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggtgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacctg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gcc	1083
<210> 22	
<211> 1326	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys tm-41BBic construct	
<400>	
22	
atggaacctg ccggacctgc tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
gcctcttctg ctctggagcgg agtggctggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac	120
aagagcgtgc tggctggccgc tggcgaaacc gccacctga gatgtacagc caccagcctg	180
atccccgtgg gcccatcca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
aaccagaaag agggccactt cccagagtgc accaccgtgt ccgacctgac caagcggaac	300
aacatggact tcagcatccg gatcggcaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
tcgctgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
acacctcagc acaccgtgc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
accctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtggtgct gacccgcgaa	660
gatgtgcaca gccaagtgat ctgcgaggtg gccacgtga cactgcaggg cgatcctctg	720
agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcgcc ccacctgga agtgaccag	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggtgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacctg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080



gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggtc	1140
ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc	1200
aagcggggca gaaagaagct gctgtacatc ttcaagcagc ctttcatgcg gcccggtcag	1260
accacccagg aagaggacgg ctgctcctgc agattccccg aggaagaaga aggcggctgc	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 tcctggcaga ctgggacctc tgctgtgtct gctgctggcc	60
gcctcttgtg cttggagcgg agtggtggc gaagaggaac tgcaagtgat ccagcccgac	120
aagagcgtgc tggtagccgc tggcgaaacc gccaccctga gatgtacagc caccagcctg	180
atccccgtgg gcccaccca gtggtttaga ggcgctggcc ctggcagaga gctgatctac	240
aaccagaaag agggccactt ccccagagt accaccgtgt ccgacctgac caagcggaa	300
aacatggact tcagcatccg gatcggaac atcacccctg ccgatgccgg cacctactac	360
tgcgtgaagt tccggaaggg cagccccgac gacgtggaat tcaaaagcgg agccggcacc	420
gagctgagcg tgcgggctaa accttctgcc cctgtggtgt ctggacctgc cgccagagct	480
acacctcagc acaccgtgc ttttacctgc gagagccacg gcttcagccc cagagacatc	540
acctgaagt ggttcaagaa cggcaacgag ctgtccgact tccagaccaa cgtggaccct	600
gtgggcgaga gcgtgtccta cagcatccac agcaccgcca aggtgggtgct gacccgcgaa	660
gatgtgcaca gccaaagtgt ctgcgaggtg gccacgtga cactgcagg cgatcctctg	720
agaggaaccg ccaacctgtc cgagacaatc agagtgcctc ccaccctgga agtgaccag	780
cagcctgtgc gggccgagaa ccaagtgaac gtgacctgcc aagtgcggaa gttctacccc	840
cagcggctgc agctgacctg gctggaaaac ggcaatgtgt cccggaccga gacagccagc	900
accgtgaccg agaacaagga tggcacctac aattggatga gctggctgct cgtgaacctg	960
tccgcccacc gggacgatgt gaagctgaca tgccaggtgg aacacgacgg ccagcctgcc	1020
gtgtccaaga gccacgatct gaaggtgtca gcccatccca aagagcaggg ctccaacaca	1080
gcctgtccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggtc	1140

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ctttcatcat cttttgggtc 1200  
 cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct 1260  
 ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga 1320  
 agcaagcggg gcagaaagaa gctgctgtac atcttcaagc agcctttcat gcggcccgtg 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 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 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

<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 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

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-CD28tm protein

<400> 29

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 Phe Trp Val Leu Val 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 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 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>

<223> huCD200R-9aas protein

<400> 31

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  
225 230

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> CD28Cys (extracellular portion) protein

<400> 32

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

1 5 10

<210> 33

<211> 311

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-12aas-CD28Cys protein

<400> 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 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 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

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic protein

<400> 35

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 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 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 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 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 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                      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 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 Glu Gly Gly Cys Glu  
 340 345 350  
 Leu  
 <210> 39  
 <211> 435  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha tm-CD28 protein

<400> 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

<220>

<223> huSIRP alpha entire extracellular domain protein

<400> 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

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha -CD28tm protein

<400> 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                                      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 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  
  
 435                                      440

<210> 43

<211> 441



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha-12aas-CD28Cys protein

<400> 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                      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 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  
                          435                      440  
  
 <210> 44  
 <211> 361  
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huSIRP alpha-12aas protein

<400> 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                                      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 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 Glu Gly 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                      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 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 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 tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtcctgacag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc 180



agcatccctc tgaccaaggc tgtgtgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240  
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cggcgtgaca 360  
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420  
aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgaact acttccccga gaagaataga 480  
agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540  
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaaccgt gcggagcacc 600  
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660  
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gccctacatc 720

ccttacatca tccccagcat catcatcctg atcatcatcg gctgcatctg cctgctgaac 780  
agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc 840  
ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 900

<210> 48  
<211> 918  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> muCD200R-CD28tm  
<400> 48

atgtttctgt tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60  
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg 120  
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgtgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240  
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300  
aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cggcgtgaca 360  
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420  
aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgaact acttccccga gaagaataga 480  
agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540  
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaaccgt gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660  
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtccctgag gcccttctgg 720

gccctggtgg tggtagccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780  
 tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840  
 acccccagaa ggcttgccct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900  
 ttgcccgcct acagacct 918

<210> 49

<211> 945

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-CD28Cys

<400> 49

atgtttctgt tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60  
 gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg 120  
 acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccttctg gtgctgtttc 180  
 agcatccctc tgaccaaggg tgtgctgac acctgatca tcaagctgag aggcctgccc 240  
 agctgcacaa tcgctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300  
 aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360  
 ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480  
 agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540  
 ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600  
 tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660  
 aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggccgaaacc agtcctgag gccctgccac 720  
 acccagagca gcccgaagct gttctgggcc ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt 780  
 tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc gtgatctgga ccaacagcag aagaaacaga 840

ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc ccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc 900  
 taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct 945

<210> 50

<211> 936

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-3aas-CD28Cys

<400> 50

atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc	180
agcatccctc tgaccaagge tgtgctgac acctgatca tcaagctgag aggcctgccc	240

agctgcacaa tcgctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300
aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420
aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgcct acttccccga gaagaataga	480
agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac	540
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgcctgt gcggagcacc	600
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaacc agtcctgcca caccagagc	720
agccccaagc tgttctgggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttg ttacggcctg	780
ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag	840
agcgactaca tgaacatgac cccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct	900
tacgcccctg ccagagactt cgccgcctac agacct	936

<210> 51

<211> 918

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-9aas-CD28Cys

<400> 51

atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc	180
agcatccctc tgaccaagge tgtgctgac acctgatca tcaagctgag aggcctgccc	240
agctgcacaa tcgctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300
aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420

aactacgatac tgcagggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgacctg gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacaccaga gcagccccaa gctgttcttg 720

gccctgggtg tggtggccgg cgtgctgttt ttttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840

acccccagaa ggcttgacct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900

ttcgccgcct acagacct 918

<210> 52

<211> 939

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-9aas-CD28Cys tm-41BBic

<400> 52

atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgtgtttc 180

agcatccctc tgaccaagge tgtgtgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cggcgtgaca 360

ctgcagcagc agggcaccta cacatgcgag acagtgacct ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgatac tgcagggtgct ggtgcccccc gaagtgacct acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgacctg gcggagcacc 600

tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacaccaga gcagccccaa gctgttcttg 720

gccctgggtg tggtggccgg cgtgctgttt ttttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccagcgt gctgaagtgg atcagaaaga agttccccca catcttcaag 840

cagcccttca agaaaaccac cggcgctgcc caggaagagg acgcctgcag ctgtagatgc 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

atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg 60

gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accacccaga acaacagcag cagccccctg 120

acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggccctgct gtgctgtttc 180

agcatccctc tgaccaaggc tgtgtctgac acctggatca tcaagctgag aggcctgccc 240

agctgcacaa tcgctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga 300

aacatcacct gggccagcac ccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360

ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420

aactacgac tgcaggtgct ggtgcccccc gaagtgcctt acttccccga gaagaataga 480

agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540

ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgaccgt gcggagcacc 600

tgctactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660

aaccagagcc tgagcatcga gctgagctgc cacaccaga gcagcccaaa gctgttcttg 720

gccctgggtg tggtggccgg cgtgtgtgtt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 780

tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg 840

acccccagaa ggcttgacct gaccagaaag cctaccagc cttacgcccc tgccagagac 900

ttcgccgctt acagacctag cgtgtctgaag tggatcagaa agaagttccc ccacatcttc 960

aagcagccct tcaagaaaac caccggcgct gccaggaag aggacgcctg cagctgtaga 1020

tgccctcagg aagaagaagg cggcggaggc ggctacgagc tg 1062

<210> 54

<211> 1305

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muSIRP alpha tm-CD28

<400> 54

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtac ccagcccag	120
aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
ctgcccgtgg gcccacacag atggtataga ggcgtgggcc ctacgagact gctgatctac	240

agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacctctg ccgacgccgg catctactac	360
tgctgaagt tccagaaggc cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcgccgga	420
accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac	540
atcacctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc cctggaaac caccgtgaac	600
cccagcgga agaactgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc	660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
cccaggagacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
aagaactga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctcctgtt tctcgtgaac	960
tcctccgcc acccgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
gccatcacca gaaaccacac agtctgtggc ttcgccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080

cagaccttc ccgacaacaa cgccaccac aactggaacg tttcatcgg cgtgggcgtg	1140
gcctgtgtc tgctggtggt gctgctgatg gccgccctgt ataacagcag aagaaacaga	1200
ggcgccaga gcgactacat gaacatgacc ccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc	1260
taccagcctt acgcccctgc cagagacttc gccgcctaca gacct	1305

<210> 55

<211> 1323

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muSIRP alpha-CD28tm

<400> 55

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg	60
---	----

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtac ccagcccag 120

aagtcctgtg ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180

ctgccgtgg gcccacacag atggtataga ggctggggc ctagcagact gctgatctac 240

agcttcgctg gcgagtacgt gccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360

tgcgtgaagt tcagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420

accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480

ggcatcccc accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac 540

atcacctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc cctggaaac caccgtgaac 600

cccagcgga agaacgtgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggccaca tcacactgga cagaagcccc 720

ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca 780

cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagt aacctgacct gcagagccga gagattctac 840

cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900

aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960

tcctccgcc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgcgtggc ttcgccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080

cagaccttc ccgacaaca gccacccac aactggaact tctgggcctt ggtggtggtg 1140

gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg cctgtgctg gatctggacc 1200

aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaagccct 1260

ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gccctgcca gagacttcgc cgcctacaga 1320

cct 1323

<210> 56

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muSIRP alpha-CD28cys

<400> 56

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60

agcgccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtac ccagcccag 120

aagtcctgtg ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180  
ctgccctggg gcccacatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240  
agcttcgctg gcgagtacgt gcccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac 300  
aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac 360  
  
tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420  
accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480  
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac 540  
atcaccctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac 600  
cccagcggca agaactgttc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660  
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720  
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca 780  
  
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840  
cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900  
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960  
tcctccgccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020  
gccatcacca gaaaccacac agtgcctggc ttcgccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080  
cagaccttc ccgacaaca cgccaccac aactggaact gccacacca gagcagcccc 1140  
aagctgttct gggctctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1200  
  
accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1260  
tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccgga agccttacca gccttacgcc 1320  
cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1350  
  
<210> 57  
<211> 1332  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> muSIRP alpha -6aas-CD28cys  
<400> 57  
atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60  
agcgcacgtg gtttctgtac ggccgccacc ggcaaagaac tgaaagtgac ccagcccag 120  
aagtcctgtg ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg 180



ctgcccggtgg gcccacatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240  
agcttcgctg gcgagtacgt gccagaatc agaaacgtgt cgcacaccac caagcggaac 300  
aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgaccctg cgcacgccgg catctactac 360  
tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420  
accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgcctataga 480  
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggttcag cccagaaaac 540  
atcacctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc cctggaaaac caccgtgaac 600

cccagcgga agaactgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660  
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720  
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca 780  
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840  
cccagaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900  
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960  
tcctccgcc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020

gccatcacca gaaaccacac agtgcctggc ttcgcccaca gcagcgacca gggcagcatg 1080  
cagaccttcc ccgacaaca ctgccacacc cagagcagcc ccaagctgtt ctgggctctg 1140  
gtggtggtgg ccggcgtgct gttttgttac ggcctgctcg tgaccgtggc cctgtgcgtg 1200  
atctggacca acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc 1260  
agaaggcctg gcctgacccg gaagccttac cagccttacg cccctgccag agacttcgcc 1320  
gcctacagac ct 1332

<210> 58

<211> 1323

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muSIRP alpha -9aas-CD28cys

<400> 58

atggaacctg ctggacctgc ccctggcaga ctgggacctc tgctgctgtg cctgctgctg 60  
agcggccagct gtttctgtac cggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtga cagccccgag 120  
aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtacct gaccagcctg 180  
ctgcccggtg gcccacatcag atggtataga ggcgtgggcc ctagcagact gctgatctac 240  
agcttcgctg gcgagtacgt gccagaatc agaaacgtgt cgcacaccac caagcggaac 300

aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac	360
tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga	420
accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga	480
ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaac	540
atcacctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc ccctggaaac caccgtgaac	600
cccagcggca agaactgtc ctacaacatc agtccaccg tgcgggtggt gctgaacagc	660
atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc	720
ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca	780
cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac	840
cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc	900
aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac	960
tcctcggccc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc	1020
gccatcacca gaaaccacac agtgcctggc ttgcgccaca gcagcgacca gggcagcatg	1080
cagaccttcc cctgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctgggctct ggtggtggtg	1140
gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgttc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc	1200
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	1260
ggcctgaccc ggaagcctta ccagccttac gccctgcca 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 gtttctgtac ggcgccacc ggcaaagaac tgaaagtac ccagcccag	120
aagtccgtgt ctgtggccgc tggcgacagc accgtgctga actgtaccct gaccagcctg	180
ctgcccgtag gccccatcag atggtataga ggctgtggcc ctagcagact gctgatctac	240
agcttcgctg gcgagtacgt gccagaatc agaaacgtgt ccgacaccac caagcggaac	300
aacatggact tcagcatcag gatcagcaac gtgacccctg ccgacgccgg catctactac	360

tgcgtgaagt tccagaaggg cagcagcgag cccgacaccg agattcagtc tggcggcgga 420  
 accgaggtgt acgtgctggc taagcccagc cctcctgagg tgtccggccc tgctgataga 480  
 ggcatccccg accagaaagt gaacttcaca tgcaagagcc acggcttcag cccagaaaac 540  
 atcacctga agtgggtcaa ggacggccag gaactgcacc cctggaaaac caccgtgaac 600  
 cccagcggca agaactgtc ctacaacatc agctccaccg tgcgggtggt gctgaacagc 660

atggacgtga acagcaaagt gatctgcgag gtggcccaca tcacactgga cagaagcccc 720  
 ctgagaggaa tcgccaacct gagcaacttc atcagagtgt cccaaccgt gaaagtgaca 780  
 cagcagagcc ccaccagcat gaaccaagtg aacctgacct gcagagccga gagattctac 840  
 cccgaggacc tgcagctgat ctggctggaa aacggcaacg tgtccagaaa cgacaccccc 900  
 aagaacctga caaagaacac cgacggcacc tacaactaca cctccctgtt tctcgtgaac 960  
 tcctccgcc accgcgagga cgtggtgttc acgtgccaag tgaagcacga ccagcagccc 1020  
 gccatcacca gaaaccacac agtgcctggc tgccacaccc agagcagccc caagctgttc 1080

tgggctctgg tgggtgtggc cggcgtgctg tttgtttacg gcctgctcgt gaccgtggcc 1140  
 ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac 1200  
 atgaccccca gaaggcctgg cctgacccgg aagccttacc agccttacgc cctgcccaga 1260  
 gacttcgccg cctacagacc t 1281

<210> 60

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD-1 ectodomain

<400> 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

atgagctttc catgtaaatt tgtagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttctttccaaa                                      60

gggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac                                      120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa                                      180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa                                      240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat                                      300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa                                      360

atatttgatt tgaagattca agagaggggc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc                                      420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa                                      480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcatcacac acaagtggac caccagcctg                                      540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcaggggaa aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct                                      600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggac                                      627

<210> 62

<211> 209

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2 entire extracellular domain

<400> 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

<210> 63

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2 transmembrane domain

<400> 63

atctatctca tcattggcat atgtggagga ggcagcctct tgatggtctt tgtggcactg 60

ctcgttttct atatcacc 78

<210> 64

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2 transmembrane domain

<400> 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

<210> 65

<211> 828

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2tm-CD28 DNA

<400> 65

atgagctttc catgtaaatt ttagccagc ttccttctga ttttcaatgt ttcttcctcaa 60

ggtgcagtct ccaaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360

atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcattcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggacatc tatctcatca ttggcatatg tggaggaggc 660

agcctcttga tggctcttgt ggcactgctc gttttctata tcacccgcag caagcggagc 720

agaggcggcc acagcgacta catgaacatg acccctagac ggcctggccc caccagaaag 780

cactaccage cctacgcccc tccccgggac ttgcccct acagaagc 828

<210> 66

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD2tm-CD28

<400> 66

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 Ile Tyr Leu Ile Ile Gly Ile Cys Gly 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

atgagctttc catgtaaatt ttagccagc ttcttctga ttttcaatgt ttcttccaaa 60

gggtgcagtct ccaagagat tacgaatgcc ttggaaacct ggggtgcctt gggtcaggac 120

atcaacttgg acattcctag ttttcaaatg agtgatgata ttgacgatat aaaatgggaa 180

aaaacttcag acaagaaaaa gattgcacaa ttcagaaaag agaaagagac tttcaaggaa 240

aaagatacat ataagctatt taaaaatgga actctgaaaa ttaagcatct gaagaccgat 300

gatcaggata tctacaaggt atcaatatat gatacaaaag gaaaaaatgt gttggaaaaa 360



atatttgatt tgaagattca agagagggtc tcaaaaccaa agatctcctg gacttgtatc 420

aacacaaccc tgacctgtga ggtaatgaat ggaactgacc ccgaattaaa cctgtatcaa 480

gatgggaaac atctaaaact ttctcagagg gtcattcacac acaagtggac caccagcctg 540

agtgcaaaat tcaagtgcac agcagggaac aaagtcagca aggaatccag tgtcgagcct 600

gtcagctgtc cagagaaagg tctggacttc tgggtgctgg tgggtgctgg aggcgtgctg 660

gcctgtctaca gcctgtcgtt caccgtggcc ttcattcatct tttgggtccg cagcaagcgg 720

agcagaggcg gccacagcga ctacatgaac atgacccta gacggcctgg cccaccaga 780

aagcactacc agccctacgc cctccccgg gactttgccg 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 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 cttggagaac cgccaacctg ggctgtgtgc tgatcctgac catcttcctg	60
gtggccgcca gcagcagcct gtgcatggac gagaagcaga tcaccagaa ctacagcaag	120
gtgctggccg aagtgaacac cagctggccc gtgaagatgg ccaccaacgc cgtgctgtgc	180
tgccctccta tcgccctgcg gaacctgac atcatcacct gggagatcat cctgcggggc	240
cagcccagct gtaccaaggc ctaccgaaa gagacaaacg agacaaaaga aacaaactgc	300

accgacgagc ggatcacatg ggtgtccaga cccgaccaga acagcgacct gcagatcaga 360  
 cccgtggcca tcaccacga cggtactac cggtgcatca tggtcacccc cgtggcaac 420  
 ttccaccggg gataccatct gcaggtgtc gtgaccccc aagtaccct gttccagaac 480  
 cggaacagaa ccgccgtgtg caaggccgtg gccggaaaac ctgccgccca gatctcttgg 540  
 atccccgagg gcgattgcgc caccaagcag gaatactggt ccaacggcac cgtgaccgtg 600  
 aagtccacct gtcactggga ggtgcacaac gtgtccaccg tgacatgcca cgtgtccac 660  
 ctgaccggca acaagagcct gtacatcgag ctgtgcctg tgcctggcgc caagaagtcc 720

gccaaagtgt gtccagccc tetgtttccc ggccctagca agcctttctg ggtgctggtg 780  
 gtggtcggag gcgtgtggc ctgtacagc ctgtgtgtca ccgtggcctt catcatcttt 840  
 tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc cacagcgact acatgaacat gaccctaga 900  
 cggcctggcc ccaccagaaa gcaactaccag ccctacgccc ctccccggga ctttgccgcc 960  
 tacagaagc 969

<210> 70

<211> 323

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huCD200R-CD28Cys

<400> 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

<220>

<223> huFas entire extracellular domain

<400> 71

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc	60
aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggccctgcacc acgacggcca gttctgccac	180
aagccttgct cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag	300
tgccggcggg gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggaccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc	480
tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaac	519

<210> 72

<211> 173

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFas entire extracellular domain

<400> 72

Met	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Leu	Leu	Pro	Leu	Val	Leu	Thr	Ser	Val	Ala
1															
Arg	Leu	Ser	Ser	Lys	Ser	Val	Asn	Ala	Gln	Val	Thr	Asp	Ile	Asn	Ser
Lys	Gly	Leu	Glu	Leu	Arg	Lys	Thr	Val	Thr	Thr	Val	Glu	Thr	Gln	Asn
Leu	Glu	Gly	Leu	His	His	Asp	Gly	Gln	Phe	Cys	His	Lys	Pro	Cys	Pro
Pro	Gly	Glu	Arg	Lys	Ala	Arg	Asp	Cys	Thr	Val	Asn	Gly	Asp	Glu	Pro
Asp	Cys	Val	Pro	Cys	Gln	Glu	Gly	Lys	Glu	Tyr	Thr	Asp	Lys	Ala	His
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  
 165 170

<210> 73

<211> 498

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFas extracellular domain -7aas

<400> 73

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60  
 aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggccctgcacc acgacggcca gttctgccac 180  
 aagccttgctc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240  
 gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggccactt cagcagcaag 300  
 tgccggcggg gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360  
 cggaccacaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420  
 gagcactgac acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480  
 tccaacacaa agtgcaaa 498

<210> 74

<211> 166

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFas extracellular domain -7aas

<400> 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 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

atgctgggca tctggacct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaacca gaacctggaa ggctgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240  
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300  
tgccgcggt gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360  
cggaccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420  
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480  
tcc 483

<210> 76

<211> 161

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFas extracellular domain -12aas

<400> 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 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			
ctgggctggc tgtgcctcct 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 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			
atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc			60
aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctgggaact gagaaagacc			120
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggctctgcacc acgacggcca gttctgccac			180
aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc			240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccaact cagcagcaag			300
tgccggcggt gcagactgtg tgatgagggc caggcctgg aagtggaaat caactgcacc			360

cggaccaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420  
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480  
tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaacc tgggctggct gtgcctcctg 540  
ctgctgcccc tcctctgat cgtgtgggtc cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc 600

gactacatga acatgacccc tagacggcct ggccccacca gaaagcacta ccagccctac 660  
gcccccccc gggactttgc cgcctacaga agc 693

<210> 80

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAStm-CD28

<400> 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 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 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

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60

aagagcgtga acgccaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120

gtgaccaccg tggaaccga gaacctggaa ggcttgcacc acgacggcca gttctgccac 180

aagccttgct cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggccactt cagcagcaag 300

tgccggcggc gcagactgtg tgatgagggc caggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360

cggaccacga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420

gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480

tccaacacaa agtgcacaaga ggaaggcagc agaagcaact tctgggtgct ggtggtggtc 540

ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgtctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc 600

cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacgcct 660

ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga 720

agc 723

<210> 82

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAS-CD28tm

<400> 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

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc 60  
aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc 120  
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggctgcacc acgacggcca gtctctccac 180  
aagccttgct cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc 240

gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag 300  
tgccggcggg gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc 360  
cggaccacaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc 420  
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc 480  
tccaacacaa agtgcaaaga ggaaggcagc agaagcaact gtcccagccc tctgtttccc 540  
ggccctagca agcctttctg ggtgctggtg gtggtcggag gcgtgctggc ctgctacagc 600  
ctgctggtca ccgtggcctt catcatcttt tgggtccgca gcaagcggag cagaggcggc 660

cacagcgact acatgaacat gaccctaga cggcctggcc ccaccagaaa gcactaccag 720  
ccctacgccc ctcccggga ctttgccgcc 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 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

<210> 85

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAS-7aas-CD28Cys

<400> 85

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc	60
aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc	120
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggctgcacc acgacggcca gttctgccac	180
aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc	240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggccactt cagcagcaag	300
tgccggcggg gcagactgtg tgatgagggc caggcctgg aagtggaaat caactgcacc	360
cggaccacaga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc	420
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagt caccctgacc	480
tccaacacaa agtgcgaatg tccagccct ctgtttcccg gccctagcaa gcctttctgg	540
gtgctgggtg tggtcggagg cgtgctggcc tgctacagcc tgctgggtcac cgtggccttc	600
atcatctttt gggtcgcgag caagcggagc agaggcggcc acagcgacta catgaacatg	660
acccctagac ggcttgcccc caccagaaag cactaccagc cctacgcccc tccccgggac	720
tttgccgcct acagaagc	738

<210> 86

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huFAS-7aas-CD28Cys

<400> 86

Met	Leu	Gly	Ile	Trp	Thr	Leu	Leu	Pro	Leu	Val	Leu	Thr	Ser	Val	Ala
1															
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



<220>

<223> FAS-12aas-CD28Cys

<400> 87

```

atgctgggca tctggaccct gctgcctctg gtgctgacaa gcgtggccag actgagcagc      60

aagagcgtga acgcccgaagt gaccgacatc aacagcaagg gcctggaact gagaaagacc      120
gtgaccaccg tggaaaccca gaacctggaa ggcctgcacc acgacggcca gttctgccac      180
aagccttgtc cccctggcga gcggaaggcc agagactgta ctgtgaacgg cgacgagccc      240
gactgcgtgc cctgtcagga aggcaaagag tacaccgaca aggcccactt cagcagcaag      300
tgccggcggg gcagactgtg tgatgagggc cacggcctgg aagtggaaat caactgcacc      360
cggaccacga acaccaagtg cagatgcaag cccaacttct tctgcaacag caccgtgtgc      420
gagcactgcg acccctgtac caagtgcgaa cacggcatca tcaaagagtg caccctgacc      480

tctctgccca gccctctgtt tcccggccct agcaagcctt tctgggtgct ggtgggtggc      540
ggaggcgtgc tggcctgcta cagcctgctg gtcaccgtgg ccttcatcat cttttgggtc      600
cgcagcaagc ggagcagagg cggccacagc gactacatga acatgacccc tagacggcct      660
ggccccacca gaaagcacta ccagccctac gccctcccc gggactttgc cgcctacaga      720
agc                                          723

```

<210> 88

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> FAS-12aas-CD28Cys

<400> 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 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

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgtctcagct gggatggcgg 60  
cctggctggt ttctggacag cccgcacaga ccctggaacc ccctacatt tccccctgcc 120  
ctgctggctg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtgagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480

agacctgccg gccagttcca gacactggtc 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 ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60  
cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc ccctacatt ttccctgcc 120  
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180  
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300  
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360  
tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420  
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa 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

<210> 93

<211> 465

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -15aas

<400> 93

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60  
cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccttgggaacc cccctacatt tccccctgcc 120  
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180  
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240  
gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gacccagctg 300  
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420  
gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccac 465

<210> 94

<211> 155

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -15aas

<400> 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

<210> 95

<211> 447

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1 2 -21aas

<400> 95

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggcc 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 ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc gggtcagagt gacccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggcccc aagggccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatctcca 480

agacctgccg gccagtcca gacactggtc tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 540

aagcctttct ggggtgctggt ggtggtcgga ggctgtctgg cctgctacag cctgctggtc 600

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 660

tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 720

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 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 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 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  
 225 230 235 240  
 Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser  
 245 250

<210> 99

<211> 714

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1-12aas-CD28Cys

<400> 99

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60  
cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccttgaacc cccctacatt ttccctgcc 120  
ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180  
gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240  
gccttccccg aggatagatc tcagcccgcc caggactgcc ggctcagagt gacccagctg 300  
cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360  
tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccgaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccaccctag cccatgtccc 480  
agccctctgt ttcccgcccc tagcaagcct ttctgggtgc tgggtggtgt cggaggcgtg 540  
ctggcctgct acagcctgct gggtaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 600  
cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctacacggcc tggccccacc 660  
agaaagcact accagcccta cgccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 714

<210> 100

<211> 238

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1-12aas-CD28Cys

<400> 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

 $\langle 210 \rangle$  101

<211> 705

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> huPD1-15aas-CD28Cys

<400> 101

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc cccctacatt ttccccctgcc 120

ctgctggtcg tgaccgaggg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttctg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggccccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggccgaa gtgcctaccg cccactgtcc cagccctctg 480

tttccggcc ctagcaagcc tttctgggtg ctggtggtgg tcggaggcgt gctggcctgc 540

tacagcctgc tggtcaccgt ggccttcac atcttttggg tccgcagcaa gcggagcaga 600

ggcggccaca gcgactacat gaacatgacc ctagacggc ctggcccccac cagaaagcac 660

taccagccct acgcccctcc 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 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

<210> 103

<211> 687

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huPD1-21aas-CD28Cys

<400> 103

atgcagatcc ctcaggcccc ttggcctgtc gtgtgggctg tgctgcagct gggatggcgg 60

cctggctggt ttctggacag ccccgacaga ccctggaacc ccctacatt ttccctgcc 120

ctgctggteg tgaccgagg cgacaatgcc accttcacct gtagcttcag caacaccagc 180

gagagcttcg tgctgaactg gtacagaatg agccccagca accagaccga caagctggcc 240

gccttccccg aggatagatc tcagcccggc caggactgcc ggttcagagt gaccagctg 300

cccaacggcc gggacttcca catgtctgtc gtgcgggcca gacggaacga cagcggcaca 360

tatctgtgcg gcgccatcag cctggcccc aaggcccaga tcaaagagag cctgagagcc 420

gagctgagag tgaccgagag aagggcctgt ccagcccctc tgtttcccgg ccctagcaag 480

cctttctggg tgctggtggt ggtcggaggc gtgctggcct gctacagcct gctggtcacc 540

gtggccttca tcatcttttg ggtccgcagc aagcggagca gaggcggcca cagcgactac 600

atgaacatga ccctagacg gcctggcccc accagaaagc actaccagcc ctacgccct 660  
 ccccgaggact ttgccgccta 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 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

<210> 105

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2tm-CD28

<400> 105

atgaagtgca agttcctggg ctcatctctt ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60  
 gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120  
 cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct ggggtgcgaag aggcacactg 180  
 gtggccgagt tcaagagaaa gaagccccc ttcctgatca gcgagacata cgagggtgctg 240  
 gccaacggca gcctgaagat caagaaacc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300  
 gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaagg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420  
 gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480  
 tccttgcctc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgctc cttcaagtgc 540  
 gaggccatca acccctgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600  
 ggctgagct tctacgtgac agtgggcgtg ggagctggcg gactgctgct ggtgctgctg 660  
 gtggccctgt tcattctctg catctgcaac agcagacgga acagaggcgg ccagagcgac 720  
 tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 780

cctgccagag acttcgcgcg ctacagacct 810

<210> 106

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2tm-CD28

<400> 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 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

atgaagtgca agttcctggg ctcattcttc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctggggc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct ggggtcgaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagcccca ttctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaacc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gtgtgtctgc agggcaccca cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca acccctgtgc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct tcigggccct ggtgggtgtg gccggcgtgc tgttttgta cggcctgctc 660

gtgacctggt cctgtgtcgt 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

<400> 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  
115  
Glu Lys Asp Leu Asp Val Arg Ile Leu Glu Arg Val Ser Lys Pro Met  
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

<210> 109

<211> 840

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28Cys

<400> 109

atgaagtgca agttctctggg ctcatctctc ctgctgttca gcctgagcgg caagggcgcc 60  
gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120  
cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtgcgaag aggcacactg 180  
gtggccgagt tcaagagaaa gaagcccca ttctgatca gcgagacata cgaggtgctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaacc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300  
gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360  
ctggaaaggg tgtccaagcc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420  
gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480  
tcctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgccc cttcaagtgc 540  
gaggccatca acccgtgtc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600  
ggcctgagct gccacacca gagcagcccc aagctgttct ggccctggt ggtgggtggc 660

ggcgtgctgt ttgttacgg cctgctctg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac 720  
agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc 780  
ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 840

<210> 110

<211> 280

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD2-CD28Cys

<400> 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 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 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 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

atgaagtga agttcctggg ctcatctctt ctgctgttca gcctgagcgg caaggcgccc 60

gactgcagag acaacgagac aatctggggc gtgctgggcc acggcatcac cctgaacatc 120

cccaacttcc agatgaccga cgacatcgac gaagtgcgct gggtcggaag aggcacactg 180

gtggccgagt tcaagagaaa gaagcccca ttcctgatca gcgagacata cgagggtctg 240

gccaacggca gcctgaagat caagaaacc atgatgagaa acgacagcgg cacctacaac 300

gtgatggtgt acggcaccaa cggcatgacc agactggaaa aggacctgga cgtgcggatc 360

ctggaaaggg tgcctaaccc catgatccac tgggagtgcc ccaacaccac cctgacctgt 420

gctgtgctgc agggcaccga cttcgagctg aagctgtacc agggcgagac actgctgaac 480

tccctgcccc agaaaaacat gagctaccag tggaccaacc tgaacgcccc cttcaagtgc 540

gaggccatca acccctgttc caaagaaagc aagatggaag tcgtgaactg ccccgagaag 600

ggcctgagct gccacaccca gagcagcccc aagctgttct gggccctggt ggtggtggcc 660

ggcgtgctgt ttgtttacgg cctgctcgtg accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccagc 720

gtgctgaagt ggatcagaaa gaagttcccc cacatcttca 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

<400> 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 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 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 accaccaga acaacagcag cagccccctg	120		
acccaagtga acaccacgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc	180		
agcatccctc tgaccaaggc tgtgctgac acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240		
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300		
aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca	360		
ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag	420		
aactacgata tgcagggtgt ggtgcccccc gaagtgcact acttccccga gaagaataga	480		
agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac	540		
ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgcacgt gcggagcacc	600		
tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc	660		
aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgcca caccagagc	720		
agccccaage tgttctgggc cctggtggtg gtggccggcg tgctgttttg ttacggcctg	780		
ctcgtgaccg tggccctgtg cgtgatctgg accaacagca gaagaaacag aggcggccag	840		
agcgactaca tgaacatgac cccagaagg cctggcctga ccagaaagcc ctaccagcct	900		
tacgcccctg ccagagactt cgccgcctac agacctagcg tgctgaagtg gatcagaaag	960		
aagttcccc acatcttcaa gcagcccttc aagaaaacca ccggcgctgc ccaggaagag	1020		
gacgcctgca gctgtagatg ccttcaggaa gaagaaggcg gcggaggcgg ctacgagctg	1080		
<210> 114			
<211> 360			

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-3aas-CD28Cys tm ic-41BB

<400> 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 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 Gly Tyr Glu Leu  
 355 360

<210> 115

<211> 966

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB

<400> 115

atgtttctgct tctggcggac aagcgccctg gccgtgctgc tgatctgggg agtgtttgtg	60
gccggcagca gctgcaccga caagaaccag accaccaga acaacagcag cagccccctg	120
acccaagtga acaccaccgt gtccgtgcag atcggcacca aggcctgct gtgctgtttc	180
agcatccctc tgaccaagge tgtgtgatc acctggatca tcaagctgag aggcctgccc	240
agctgcacaa tcgcctacaa ggtggacacc aagaccaacg agacaagctg cctgggcaga	300

aacatcacct gggccagcac cccagaccac agccctgagc tgcagatcag cgccgtgaca 360  
 ctgcagcacg agggcaccta cacatgcgag acagtgaccc ccgagggcaa cttcgagaag 420  
 aactacgata tgcagggtgt ggtgcccccc gaagtgcact acttccccga gaagaataga 480  
 agcgccgtgt gcgaggccat ggctggcaaa cctgccgccc agatctcttg gagccctgac 540  
 ggcgactgtg tgaccaccag cgagagccac agcaacggca cagtgcaccg gcggagcacc 600  
 tgtcactggg agcagaacaa cgtgtccgac gtgtcctgca tcgtgtccca cctgaccggc 660  
 aaccagagcc tgagcatcga gctgagcaga ggcggaaacc agtcctgag gccctgccac 720

accagagca gcccgaagct gttctgggcc ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt 780  
 tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc gtgatctgga ccagcgtgct gaagtggatc 840  
 agaaagaagt tccccacat cttcaagcag cccttcaaga aaaccaccgg cgctgcccag 900  
 gaagaggacg cctgcagctg tagatgccct caggaagaag aaggcggcgg aggcggctac 960  
 gagctg 966

<210> 116

<211> 322

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muCD200R-CD28Cys tm ic-41BB

<400> 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 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 Leu Arg Pro Cys His  
 225 230 235 240  
 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 Glu Gly Gly Gly Gly Tyr  
 305 310 315 320  
 Glu Leu  
 <210> 117  
 <211> 681  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence

$\langle 220 \rangle$ 

<223> muFas tm-CD28

<400> 117

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac	60
accaggggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca	120
gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaacct tctgctgtca gccttgccag	180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcacccttac ctgcgccct	240
tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg cgcacaagtg cagacggtgc	300
accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaacaa actgcaccct gaccagaac	360
accaagtgca agtgcaaacc cgactttac tgcgacagcc cgggtgcga gactgcgtc	420
agatgtgcct ctgcgagca cggcacctg gaaccttgta cgcaccag caacaccaac	480
tgccggaagc agagccccag aaacagactg tggctgctga ccatctggt gctgctgac	540
cccttggtgt tcatctaca cagcagaaga aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac	600

atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga aagccctacc agccttacgc cctgcccaga 660  
gacttcgcgc cctacagacc t 681

<210> 118

<211> 227

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> muFas tm-CD28

<400> 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 tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

accaggga ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcgaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcaccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacgggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaacaa actgcaccct gacccagaac 360  
 accaagtgca agtgcaaac cgacttctac tgcgacagcc cgggtgcga gcaactgcgtc 420  
 agatgtgcct cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta cgcaccag caacaccaac 480  
 tgccggaagc agagccccag aaacagattc tgggccctgg tgggtgtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgctga tctggacaa cagcagaaga 600  
 aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660  
 aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

<210> 120

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-CD28tm

<400> 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

<210> 121

<211> 738

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-CD28Cys

<400> 121

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac	60
accagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca	120
gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcgaccct tctgctgtca gccttgccag	180
cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcaccctac ctgcgccct	240
tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg ccgacaagtg cagacggtgc	300
accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac	360
accaagtga agtgcaaacc cgacttctac tgcgacagcc ccggctgcga gactgcgtc	420
agatgtgctt cttgcgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac	480
tgccggaagc agagccccag aaacagatgc cacaccaga gcagcccaa gctgttctgg	540
gccctggtgg tgggtggccgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggcctg	600
tgcgtgatct ggaccaacag cagaagaaac agaggcggcc agagcgacta catgaacatg	660
acccccagaa ggcttgccct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac	720

ttcgccgcct acagacct

738

<210> 122

<211> 246

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-CD28Cys

<400> 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 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 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> 123

<211> 711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-9aas-CD28Cys

<400> 123

atgctgtgga tctgggccgt gctgcctctg gtgctggctg gatcacagct gagagtgcac 60

accagggca ccaacagcat cagcgagagc ctgaagctga gaagaagagt gcgcgagaca 120

gacaagaact gcagcgaggg cctgtaccag ggcggaccct tctgctgtca gccttgccag 180

cccggcaaga aaaaggtgga agattgcaag atgaacggcg gcaccctac ctgcgccct 240

tgtacagagg gcaaagagta catggacaag aaccactacg cgcacaagt cagacggtgc 300

accctgtgcg acgaggaaca cggcctggaa gtggaaacaa actgcaccct gaccagaac 360

accaagtga agtgcaaac cgacttctac tgcgacagcc cggctgcga gcactgcgtc 420

agatgtgcct ctgacgagca cggcaccctg gaaccttgta ccgccaccag caacaccaac 480

tgccacacc agagcagccc caagctgttc tgggccctgg tgggtgtggtgc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gctgtctgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc cctgcccaga gacttcgccg cctacagacc t 711

<210> 124

<211> 237

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muFas-9aas-CD28Cys

<400> 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 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 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 ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag			60
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct			120
tggctgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc			180
gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc			240
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg			300
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc			360
tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcttggcgcc			420
gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccgccct			480
aagccccgagg gcagatttca gggcatggtc atcggcacatc tgagcgccct cgtgggcac			540
ccagtgttgc tgctgtggc ctgggccctg aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc			600
gactacatga acatgacccc cagaaggcct ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac			660
gccctgcca gagacttcgc cgctacaga cct			693

<210> 126  
<211> 231  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220>  
<223> muPD1tm-CD28  
<400> 126

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 Val Ile Gly Ile Met Ser Ala

165 170 175

Leu Val Gly Ile Pro Val Leu Leu Leu Leu Ala Trp Ala Leu Asn Ser

180 185 190

Arg Arg Asn Arg Gly 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 ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttggagaa gcctgacctt ctaccccgct 120  
 tggctgaccg tgcttgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240  
 gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300  
 cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360  
 tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420  
 gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480  
 aagcccaggg gcagatttca gggcatgttc tgggcctgg tgggtggtggc cggcgtgctg 540  
 ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgctga tctggaccaa cagcagaaga 600

aacagaggcg gccagagcga ctacatgaac atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660  
 aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gatttcgccg cctacagacc t 711

<210> 128  
 <211> 237  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> muPD1-CD28tm  
 <400> 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 ctggctcttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag	60		
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaa gcctgacct ctacccgct	120		
tggtgaccg tgtctgagg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc	180		
gaggacctga tgetgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc	240		
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg	300		
cccaacagac acgattcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc	360		
tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc	420		

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag cccagccct 480

aagcccagg gcagatttca gggcatgtgc cacaccaga gcagcccaa gctgttctgg 540

gctctggtgg tgggtggcgg cgtgctgttt tgttacggcc tgctcgtgac cgtggccctg 600

tgcgtgatct ggaccaacag cagacggaac agaggcggcc agagcgacta catgaatatg 660

acccccagaa ggcctggcct gaccagaaag ccctaccagc cttacgcccc tgccagagac 720

ttcgccgcct 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 ctggtctttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60

tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaa gcctgacctt ctaccccgct 120

tggtgaccg tgtctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180

gaggacctga tgetgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240

gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300

cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360

tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatcctggaa acctccacca gataccccag ccccagccct 480

tgccacaccc agagcagccc caagctgttc tgggctctgg tgggtggtggc cggcgtgctg 540

ttttgttacg gcctgctcgt gaccgtggcc ctgtgcgtga tctggaccaa cagcagacgg 600



aacagaggcg gccagagcga ctacatgaat atgaccccca gaaggcctgg cctgaccaga 660

aagccctacc agccttacgc ccctgccaga gacttcgccg 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

<220>

<223> muPD1-21aas-CD28Cys

<400> 133

atgtgggtgc gacaggtgcc ctggctcttc acctgggctg tgctgcagct gagctggcag 60  
tctggctggc tgctggaagt gcctaacggc ccttgagaa gcctgacatt ctaccccgt 120  
tggtgaccg tgctgaggg cgccaacgcc accttcacct gtagcctgag caattggagc 180  
gaggacctga tgctgaactg gaacagactg agccccagca accagaccga gaagcaggcc 240  
gccttctgca acggcctgtc tcagcctgtg caggacgcca gattccagat catccagctg 300  
cccaacagac acgacttcca catgaacatc ctggacacca gaagaaacga cagcggcatc 360  
tacctgtgcg gcgccatcag cctgcacccc aaggccaaga tcgaggaatc tcctggcgcc 420

gagctggtcg tgaccgagag aatctgccac acccagagca gcccgaagct gttctgggct 480  
ctggtggtgg tggccggcgt gctgttttgt tacggcctgc tcgtgaccgt ggccctgtgc 540  
gtgatctgga ccaacagcag acggaacaga ggcggccaga gcgactacat gaatatgacc 600  
cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc taccagcctt acgcccctgc cagagacttc 660  
gccgcctaca gacct 675

<210> 134

<211> 225

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muPD1-21aas-CD28Cys

<400> 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

<211> 1512

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3tm-CD28

<400> 135

atgagagagg accctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg	60
gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg	120
catctgccct gcagcctgaa gtccccaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc	180
gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg	240
caccaggcca tgcctagccc tagacagcct gccctggca gataccctg gctgtctgtg	300
gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag	360
aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggtctgaggc ctgccctgag aacagatgcc	420
ggcagtagtacc acgtaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgtc cctgagactg	480
agagtgggcc aggccagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg	540
gtgtctgtga actgcagctt ctccagacc gacagaccg tgtccgtgca ctggttccag	600
ggacagaaca gagtgccgt gtacaacagc ccagacact tctggccga gacattcctg	660
ctgtgcccc aggtgtcccc tctggactct ggacatggg gctgcgtgct gacatacagg	720
gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct	780
cctctgacag tgiacgccg cgagggcagc agagtggaa tgcttgtca tctgccacc	840
ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggacc ctccaggcgg aggacctgaa	900
ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaaagcagt gggcctggct	960
caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa gccaccgtg	1020
acactggccg tgatcacctg gaccccaag agctttggcc tgcttggtc cagaggcaag	1080
ctgtgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac	1140
aacctgagca gatcctgccc agggcccgct ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc	1200
gagcgtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgt	1260
gtgagtcta gctctggcgc ccacagcgc agaagaatca gcggcgatct gaaggcggc	1320
cacctggtgc tgggtctgat cctgggcgct ctgagcctgt tcctgctggt ggctggcgt	1380
ttcggtttta acagcagaag aaacagaggc ggccagagcg actacatgaa catgaccccc	1440
agaaggcctg gcctgaccag aaagccctac cagccttacg cccctgccag agacttcgcc	1500
gcctacagac ct	1512

<210> 136

<211> 504

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3tm-CD28

<400> 136

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 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 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 accctgtctg gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg	60
gtgtcatctg gccctggcaa agaactgccc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg	120
catctgccct gcagcctgaa gtccccaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc	180
gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg	240
caccagggca tgcctagccc tagacagcct gccctggca gataccctg gctgtctgtg	300
gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag	360
aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggtctgaggc ctgccctgag aacagatgcc	420
ggcgagtacc acgtacagt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg	480
agagtgggcc aggccagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg	540
gtgctgctga actgcagctt ctccagacc gacagaccg tgtccgtgca ctggttcag	600
ggacagaaca gagtgccct gtacaacagc ccagacact tcctggccga gacattcctg	660
ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg	720
gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct	780
cctctgacag tgiacgccgc cgagggcagc agagtggaa tgccttgtca tctgccaccc	840
ggcgtgggca caccttctct gctgategcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa	900
ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct	960
caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg	1020

acactggccg tgatcacgt gacccccaag agctttggcc tgcctggctc cagaggcaag 1080  
ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc aggccccgtg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200  
gagcgggtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgt 1260  
gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gcggcgatct gaaggcgggc 1320  
cacctgttct gggccctggt ggtggtggcc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1380  
accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1440  
tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500  
cctgccagag acttcgccgc ctacagacct 1530

<210> 138

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-CD28tm

<400> 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 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 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 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 gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg	60
gtgtcatctg gccctggcaa agaactgcc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg	120
catctgccct gcagcctgaa gtccccaac ctggacceca acttcctgag aagaggcggc	180
gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg	240
caccaggga tgcctagccc tagacagcct gccctggca gataaccgt gctgtctgtg	300
gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag	360
aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggtgaggc ctgccctgag aacagatgcc	420

ggcgagtacc acgtaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480  
agagtgggcc aggccagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540  
gtgctgctga actgcagctt ctccagaccc gacagacccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtgccct gtacaacagc ccagacact tcctggccga gacattcctg 660  
ctgctgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgctgct gacatacagg 720  
gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780  
cctctgacag tgiacgccgc cgagggcagc agagtggaa tgccttgta tctgccaccc 840  
ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggaccc ctccaggcgg aggacctgaa 900  
ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960  
caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggccg tgatcacctg gacccccaa agctttggcc tgcttgctc cagaggcaag 1080  
ctgctgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140  
aacctgagca gatcctgccc agggcccgctg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200  
gagcgtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgt 1260  
gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatca gcggcgatct gaaggcgggc 1320  
cacctgtgcc acaccagag cagccccaag ctgttctggg ccctggtggt ggtggccggc 1380  
gtgctgtttt gttacggcct gctcgtgacc gtggccctgt gcgtgatctg gaccaacagc 1440

agaagaaca gaggcggcca gagcgactac atgaacatga ccccgagaag gcctggcctg 1500  
accagaaagc cctaccagcc ttacgccct gccagagact tcggcgcta cagacct 1557

<210> 140

<211> 519

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-CD28Cys

<400> 140

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 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 Ser Gly Ala His Ser Ala Arg Arg  
                          420                      425                      430  
 Ile Ser Gly Asp Leu Lys Gly Gly His Leu Cys His Thr Gln Ser Ser  
                          435                      440                      445  
 Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val Leu Phe Cys  
                          450                      455                      460  
 Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp Thr Asn Ser  
  
 465                      470                      475                      480  
 Arg Arg Asn Arg Gly Gly Gln Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg  
                          485                      490                      495  
 Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Ala Arg  
                          500                      505                      510  
 Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro  
                          515  
 <210> 141  
 <211> 1530  
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-9aas-CD28Cys

<400> 141

atgagagagg accctgctgct gggctttctg ctgctgggac tgctgtggga ggcccctgtg 60

gtgtcatctg gccctggcaa agaactgcc gtcgtgtggg ctcaggaagg cgctcctgtg 120

catctgccct gcagcctgaa gtccccaac ctggaccca acttcctgag aagaggcggc 180

gtgatctggc agcaccagcc tgattctggc cagccacac ctatccctgc cctggatctg 240

caccagggca tgcctagccc tagacagcct gccctggca gatacaccgt gctgtctgtg 300

gctcctggcg gcctgagaag tggcagacag cctctgcacc ctcacgtgca gctggaagag 360

aggggactgc agaggggcga cttcagcctg tggctgaggg ctgccctgag aacagatgcc 420

ggcgagtacc acgtaccgt gcggctgcct aacagagccc tgagctgctc cctgagactg 480

agagtgggcc aggccagcat gatgcctct ccatctggcg tgctgaagct gagcgactgg 540

tgctgtctga actgcagctt ctccagacc gacagaccg tgtccgtgca ctggttccag 600

ggacagaaca gagtggccgt gtacaacagc ccagacact tcctggccga gacattcctg 660

ctgtgcccc aggtgtcccc tctggactct ggcacatggg gctgcgtgct gacatacagg 720

gacggcttca acgtgtccat cacctacaac ctgaaggtgc tgggcctgga acccgtggct 780

cctctgacag tgiacggcg cgagggcagc agagtgaac tgccttgtca tctgccaccc 840

ggcgtgggca caccttctct gctgatcgcc aagtggacc ctccaggcgg aggacctgaa 900

ctgccagtgg ctggcaagag cggcaacttc accctgcacc tggaagcagt gggcctggct 960

caggccggca cctacacctg tagcatccat ctgcagggcc agcagctgaa cgccaccgtg 1020

acactggcgg tgatcacctg gaccccaag agctttggcc tgcttggtc cagaggcaag 1080

ctgtgtgtg aagtgacccc cgccagcggc aaagaaagat tcgtgtggcg gcctctgaac 1140

aacctgagca gatcctgccc agggcccctg ctggaaatcc aggaagccag actgctggcc 1200

gagcgtggc agtgccagct gtatgaggga cagcgactgc tgggcgccac tgtgtacgt 1260

gctgagtcta gctctggcgc ccacagcgcc agaagaatct gccacacca gagcagcccc 1320

aagctgttct gggccctggg ggtgtgtggc ggcgtgctgt tttgttacgg cctgctcgtg 1380

accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac 1440

tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc 1500

cctgccagag acttcgcgc ctacagacct 1530

<210> 142

<211> 510

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muLag3-9aas-CD28Cys

<400> 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 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 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  
 465 470 475 480  
 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> 143

<211> 765

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3tm-CD28

<400> 143

atgttcagcg gcctgacct gaactgcgtg ctctgctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac	120
accctgtcta cacctggcgc cctggtgctt atgtgttggg gcaagggctt ctgcccttgg	180
agccagtgca ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgacctt ccagaagtcc	240
agcagatacc agctgaaggc cgacctgaac aagggcgacg tgtccctgat catcaagaac	300
gtgaccttgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac	360
gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca	420
gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc	540
gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcca tccacatcgg cgtgggcgtg	600
tccgctggac tgacactggc tctgatcatc ggagtgtctga tcaacagcag aagaaacaga	660
ggcggccaga gcgactacat gaacatgacc cccagaaggc ctggcctgac cagaaagccc	720
taccagcctt acgccccctg cagagacttc gccgcctaca gacct	765

<210> 144

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3tm-CD28

<400> 144

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu 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 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 ctctgtctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac	120
accctgtcta cacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggg gcaagggtt ctgcccttgg	180
agccagtga ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgaccta ccagaagtcc	240
agcagatacc agctgaaggc cgacctgaac aaggcgacg tgtccctgat catcaagaac	300
gtgaccctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac	360
gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca	420
gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc	540
gacgagatca aggacagcgg cgagacaatc agaaccgcct tctgggccct ggtggtggtg	600
gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgaccgtgg ccctgtgcgt gatctggacc	660
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	720
ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gccctgcca 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 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 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

<210> 147

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-CD28Cys

<400> 147

```

atgttcagcg gcctgaccct gaactgcgtg ctctgtctgc tgcagctgct gctggccaga    60
agcctggaaa acgcctacgt gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac    120
accctgtcta cacctggcgc cctgggtgcct atgtgttggg gcaagggcct ctgcccttgg    180
agccagtga ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgacctt ccagaagtcc    240
agcagatacc agctgaaggg cgacctgaac aaggcgacg tgtccctgat catcaagaac    300
gtgaccttgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac    360
gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca    420

gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc    480
gagacacaga cctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctggggc    540
gacgagatca aggacacggg cgagacaatc agaaccgcct gccacacca gagcagcccc    600
aagctgttct gggccctggg ggtgggtggc ggcgtgtctgt tttgttacgg cctgctcgtg    660
accgtggccc tgtgcgtgat ctggaccaac agcagaagaa acagaggcgg ccagagcgac    720
tacatgaaca tgacccccag aaggcctggc ctgaccagaa agccctacca gccttacgcc    780
cctgccagag atttcgccgc ctacagacct                                810

```

<210> 148

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-CD28Cys

<400> 148

```

Met Phe Ser Gly Leu Thr Leu Asn Cys Val Leu 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 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

<211> 783

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-9aas-CD28Cys

<400> 149

atgttcagcg gcctgacct gaactgcgtg ctctgctgc tgcagctgct gctggccaga	60
agcctggaaa acgcctactg gttcgaagtg ggcaagaacg cctacctgcc ctgcagctac	120
acctgtctca cacctggcgc cctggtgcct atgtgttggg gcaagggtt ctgcccttgg	180
agccagtga ccaacgagct gctgagaacc gacgagagaa acgtgacct ccagaagtcc	240
agcagatacc agctgaagg cgacctgaac aaggcgacg tgtccctgat catcaagaac	300
gtgacctgg acgaccacgg cacctactgc tgcagaatcc agttccccgg cctgatgaac	360

gacaagaagc tggaactgaa gctggacatc aaggccgcca aagtgacccc tgcccagaca	420
gcccacggcg actctacaac agccagcccc agaaccctga ccaccgagag gaacggcagc	480
gagacacaga ccctcgtgac actgcacaac aacaacggca ccaagatcag cacctgggcc	540
gacgagatca agtgccacac ccagagcagc cccaagctgt tctgggcct ggtggtggtg	600
gccggcgtgc tgttttgtta cggcctgctc gtgacctgg cctgtgctg gatctggacc	660
aacagcagaa gaaacagagg cggccagagc gactacatga acatgacccc cagaaggcct	720
ggcctgacca gaaagcccta ccagccttac gccctgcca gagacttcgc cgcctacaga	780

cct	783
-----	-----

<210> 150

<211> 261

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> muTim3-9aas-CD28Cys

<400> 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
				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

<210> 151

<211> 1536



<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3tm-CD28

<400> 151

```
atgtgggaag cgcagtttct tggactttct tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta    60
aagccgctcc aacccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg    120
cagctccctc gcagtcgcag gattccgctg caagatttgt cactgcttag aaggcggggc    180
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc    240
gccccgggcc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatataca    300
gtactctcag taggtcccg cgccctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta    360
```

```
cagctggatg aaagaggctg acaacggggt gatttctccc tctggttag gcctgcacga    420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt    480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtcctgcga    540
gcctctgatt gggttaact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt    600
cattggttcc gaaatcgcg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat    660
ttggcggagt cttttcttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtggggc    720
tgtattttga catatcgga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg    780
```

```
ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggctctg    840
ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagaaa gtggaccccg    900
ccaggtgggg ggcccagct cttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt    960
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgac acattcactt gcaagaacag    1020
cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt    1080
ccgggtagcc tgggcaaat gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc    1140
gtctggagct cattggacac tcctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc    1200
```

```
caagaagccc agctgcttcc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt    1260
ctcggtcgcg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc    1320
gccccagggg cctccccgc aggacacctt ctgctgtttt tgattttggg ggtacttagt    1380
ttgtctgtgc ttgtcacagg cgctttcggt ttccgcagca agcggagcag aggcggccac    1440
agcgactaca tgaacatgac cctagacgg cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc    1500
tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac agaagc                                1536
```

<210> 152

<211> 512

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3tm-CD28

<400> 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 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 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

<210> 153

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3 ectodomain

<400> 153

atgtgggaag cgcagtttct tggactttct tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta	60
aagccgctcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg	120
cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aaggcggggc	180
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc	240
gccccgggc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccagc cagatataca	300
gtactctcag taggtcccgc cggcctgcgg tccggtcgtc tgccccttca acctagagta	360
cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttag gcctgcacga	420
cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt	480
agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga	540
gcctctgatt gggttaact caactgtca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt	600
cattggttcc gaaatcgcg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat	660
ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc	720
tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg	780
ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg	840
ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaaa gtggaccccg	900
ccaggtgggg ggcccgaact ctttgaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt	960
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag	1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcggtgccg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccagggg ccctcccggc 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	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

450

<210> 155

&lt;211&gt; 63

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> huLag3 transmembrane domain

<400> 155

ctgctgtttt tgattttggg ggtacttagt ttgctgctgc ttgtcacagg cgcttttcggt 60

| ttc | 63 |

<210> 156

<211> 21

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> huLag3 transmembrane domain

<400> 156

Leu Leu Phe Leu Ile Leu Gly Val Leu Ser Leu Leu Leu Leu Val Thr

1                                      5                                      10                                      15

Gly Ala Phe Gly Phe

20

<210> 157

<211> 1554

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-CD28tm

<400> 157

atgtgggaag cgcagtttct tggactttct tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60  
aagccgctcc aaccgggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120  
cagctccctt gcagtcggac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aaggcggggc 180  
gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc 240  
gccccggcc ctcattccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatatata 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccctca acctagagta 360  
cagctggatg aaagaggtcg acaacggggg gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420  
cgagcagatg ctggggagta taggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480  
agactccggc tccggtggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540  
gcctctgatt gggtaatact caactgtcga tttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600  
cattggttcc gaaatcgcgg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660  
ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctccccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcggga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780  
ggtcttgagc cacctacgcc gctgacgggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840  
ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaa gtggaccccg 900  
ccaggtgggg ggcccagct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960  
gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020  
cagttgaatg cgacggttac cctgctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080  
ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200  
caagaagccc agctgcttcc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260  
ctcgggtcgg ctgtctactt caccgaattg tctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320  
gccccagggg cctcccggc aggacacctt ttttggtgct tgggtggtgt cggaggcgtg 1380  
ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440  
cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500  
agaaagcact accagcccta cgccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554

<210> 158

<211> 518



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-CD28tm

<400> 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                      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 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> 159

<211> 1554

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-12aas-CD28Cys

<400> 159

atgtgggaag cgcagtttct tggactttct tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccgggtc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctccct gcagtcgac gattccgtg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccggctg cagcaccagg gcaccactc 240

gccccggcc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccacg cagatatata 300

gtactctcag taggtcccg cggcctgcgg tccggtcgct tgcccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggttaact caactgctca tttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcg ccaaggctgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660

ttggcggagt cttttcttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcgga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca agtcatctcc ttacagaaa gtggaccccg 900

ccagtgggg ggcccgacct ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgtc acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tticggtagt 1080  
 ccgggtagcc tgggcaaaact gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140  
 gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200  
 caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260  
 ctcggtgcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagttgtccc 1320  
 agccctctgt ttcccggccc tagcaagcct ttctgggtgc tgggtggtgt cggaggcgtg 1380  
 ctggcctgct acagcctgct ggtcaccgtg gccttcatca tcttttgggt ccgcagcaag 1440

cggagcagag gcggccacag cgactacatg aacatgaccc ctagacggcc tggccccacc 1500  
 agaaagcact accagcccta cgccctccc cgggactttg ccgcctacag aagc 1554

<210> 160

<211> 518

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-12aas-CD28Cys

<400> 160

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 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

atgtgggaag cgcagtttct tggacttctt ttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtccgac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccgctg cagcaccagg gcaccactc 240

gccccggcc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccagc cagatatata 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgct tgccccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatttctccc tctggttgag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacacgtg cccccctgg gtcctgcga 540

gcctctgatt gggttaact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcgga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacggtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgcctgcagg agtcgggaca aggtcattcc ttacagcaa gtggaccccg 900

ccagggtggg ggcccacat ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gagtagtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgac acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacggttac cctggctatc ataacagtaa cacctaaac tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaact gttgtgtgag gtaaccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta gcggaccctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgcttcc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcgggtcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag 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

atgtgggaag cgcagtttct tggactttct tttctccagc cgctgtgggt tgcgccagta 60

aagccgctcc aacccggtgc agaggttccg gtagtgtggg cgcaagaggg tgcaccagcg 120

cagctcccct gcagtcgcac gattccgctg caagatttgt cactgcttag aagggcgggc 180

gtaacgtggc agcaccaacc ggatagtggc cctccgctg cagcaccagg gcaccactc 240

gccccggcc ctcatccgc agcaccgagc agctggggtc ctagaccagc cagatataca 300

gtactctcag taggtcccgg cggcctgcgg tccggtcgt tgccttca acctagagta 360

cagctggatg aaagaggtcg acaacggggt gatctctccc tctggttag gcctgcacga 420

cgagcagatg ctggggagta tagggctgcc gtacacctgc gagaccgcgc acttagttgt 480

agactccggc tccggctggg acaggcctct atgacagcgt cccccctgg gtccctgcga 540

gcctctgatt gggtaatact caactgctca ttttctcggc cagatcgccc cgctagtgtt 600

cattggttcc gaaatcgcg ccaaggtcgc gtgcctgttc gagaatctcc acaccacat 660

ttggcggagt cttttctttt tctgcctcag gtctcccta tggactctgg accgtggggc 720

tgtattttga catatcgga tgggtttaac gtgagtataa tgtataatct cactgtcttg 780

ggtcttgagc cacctacgcc gctgacgtg tacgcgggag ccggcagccg ggttggtctg 840

ccctgcaggc tgctgcagg agtcgggaca agtcatctcc ttacagcaaa gtggaccccg 900

ccagggtggg ggcccacat ccttgtaacg ggagataatg gagatttcac tctgagactt 960

gaggatgtct ctcaagctca ggctgggact tatacatgac acattcactt gcaagaacag 1020

cagttgaatg cgacgggtac cctggctatc ataacagtaa cacctaaatc tttcggtagt 1080

ccgggtagcc tgggcaaat gttgtgtgag gtaacccccg tgtcaggtca agagcggttc 1140

gtctggagct cattggacac tccctcacag cgatccttta ggggacctg gctcgaagcc 1200

caagaagccc agctgctttc ccaaccatgg cagtgtcaac tctatcaggg tgagcgcctt 1260

ctcgggtcgg ctgtctactt caccgaattg tcctctccgg gagcgcaaag aagtggacgc 1320

gccccaggg cctcccggc aggacacatt tgtcccagcc ctctgtttcc cggccctagc 1380

aagcctttct ggggtgctgt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 1440

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 1500

tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 1560

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 1590

<210> 164

<211> 530

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huLag3-CD28Cys

<400> 164

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 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

atgtttctccc atcttccttt cgactgtgtg ttgtctcttc tcttctgtct tctcaccggt 60  
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctccc ctgtttttac 120  
acaccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt 180  
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240  
agatatgtgt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300  
acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccttggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420  
cagcgcgact tcacggctgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tgggccagcg 480  
gagaccaga cacttggttag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540  
aacgagctcc gagattccag gcttgcaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600  
atcggtatct acataggtgc cgggatatgc gccggtctcg cacttgctt gattttcggg 660  
gcactgattc gcagcaagcg gagcagaggc ggccacagcg actacatgaa catgaccctt 720  
agacggcctg gccccaccag aaagcactac cagccctacg cccctccccg ggactttgcc 780

gcctacagaa gc 792

<210> 166

<211> 264

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3tm-CD28

<400> 166

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu 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 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

<210> 167

<211> 606

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3 ectodomain

<400> 167

```
atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgtctcttc tctcctgtct tctcaccggt    60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctcc ctgtttttac    120
acaccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt    180
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc    240
agatatgtgt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgacat tgagaatgta    300
acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac    360
```

```
gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga    420
cagcgcgact tcacggctgc cttccacgc atgttgacca caaggggaca tggccagcg    480
gagaccaga cacttgtag cctccggac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg    540
aacgagctcc gagattccag gcttgcaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga    600
atcgggt                                           606
```

<210> 168

<211> 202

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3 ectodomain

<400> 168

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu 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

&lt;211&gt; 63

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> huTim3 transmembrane

<400> 169

atctacatag gtgccgggat atgcgccggt ctgcacttg ccttgatttt cggggcactg 60

att 63

<210> 170

<211> 21

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$ 

<223> huTim3 transmembrane



<400> 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

<210> 171

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-CD28tm

<400> 171

atgttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgctccttc tctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctcc ctgtttttac 120

acaccgcgtg cgccgggaaa cctgggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatatgtgt tgaatggcga ttttagaaaag ggtgatgtga gcttgacat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag cggccaagg tgacaccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggtgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tggtcagcg 480

gagaccaga cacttggtag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga 600

atcggtttct ggggtgctgt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 660

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagaggcgg ccacagcgac 720

tacatgaaca tgaccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 780

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 810

<210> 172

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-CD28tm

<400> 172

```

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu 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	

<210> 173

<211> 846

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-CD28Cys

<400> 173

atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgtctcttc tctcctgct tctcaccg	60
tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctcc ctgtttttac	120
acaccgcgtg cgccgggaaa cctgggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt	180
ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc	240
agatatgtgt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgacat tgagaatgta	300
acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac	360
gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacaccgc cccgacacga	420
cagcgcgact tcacggctgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tggccagcg	480
gagaccaga cacttggtag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg	540
aacgagctcc gagattccag gcttgcaat gacctgaggg attctggagc taccatcaga	600
atcggttgtc ccagccctct tttcccggc ctagcaagc ctttctgggt gctgggtgtg	660
gtcggaggcg tgctggcctg ctacagcctg ctggtcaccg tggccttcat catcttttg	720
gtccgcagca agcggagcag aggcggccac agcgactaca tgaacatgac ccctagacgg	780
cctggcccca ccagaaagca ctaccagccc tacgcccctc cccgggactt tgccgcctac	840
agaagc	846

<210> 174

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-CD28Cys

<400> 174

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu 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 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

<210> 175

<211> 810

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-12aas-CD28Cys

<400> 175

atgtttctcc atcttcctt cgactgtgtg ttgtctcttc tctcctgct tctcacccgg 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctcc ctgtttttac 120

acaccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgccctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatatgggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgacat tgagaatgta 300

acgcttgctg atagcgggat atattgctgt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tgggccagcg 480

gagaccaga cacttggttag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgcaat tgtccagcc ctctgtttcc cgccctagc 600

aagcctttct ggggtgctggt ggtggtcgga ggcgtgctgg cctgctacag cctgctggtc 660

accgtggcct tcatcatctt ttgggtccgc agcaagcgga gcagagcgcg ccacagcgac 720

tacatgaaca tgacccctag acggcctggc cccaccagaa agcactacca gccctacgcc 780

cctccccggg actttgccgc ctacagaagc 810

<210> 176

<211> 270

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> huTim3-12aas-CD28Cys

<400> 176

Met Phe Ser His Leu Pro Phe Asp Cys Val Leu 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 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

atgtttctccc atcttccctt cgactgtgtg ttgtctcttc tcttctgtgt tctcaccggt 60

tcaagcgaag tagagtaccg ggcggaagta ggtcagaacg catactctcc ctgtttttac 120

acaccgctg cgccgggaaa cctggttccc gtgtgttggg gaaagggggc atgcctgtt 180

ttcgagtgtg gcaacgtggt cctccggacg gatgagcgag acgtgaatta ttggacgagc 240

agatattggt tgaatggcga ttttagaaag ggtgatgtga gcttgaccat tgagaatgta 300

acgcttgtgt atagcgggat atattgtgtt agaattcaaa tccctggtat aatgaacgac 360

gaaaaattca atctgaagct ggtaattaag ccggccaagg tgacacccgc cccgacacga 420

cagcgcgact tcacggctgc ctttcacgc atgttgacca caaggggaca tgggtccagcg 480

gagaccaga cacttggtag cctcccgac ataaacctca cacaatatc cacgttggcg 540

aacgagctcc gagattccag gcttgccaat 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 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
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
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