



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0093977
(43) 공개일자 2021년07월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 5/0783 (2010.01) A61K 35/17 (2014.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/525 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01) C12N 15/85 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12N 5/0646 (2013.01)
A61K 35/17 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7018726
(22) 출원일자(국제) 2019년11월18일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년06월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/062009
(87) 국제공개번호 WO 2020/106619
국제공개일자 2020년05월28일
(30) 우선권주장
62/769,405 2018년11월19일 미국(US)
(뒷면에 계속)

(71) 출원인
보드 오브 리전츠, 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템
미국 텍사스주 78701 오스틴 웨스트 7번 스트리트 210
(72) 발명자
레즈바니 케이티
미국 텍사스주 77030 휴스턴 홀콤 블러바드 1515
유닛 # 0065 유.티.엠.디. 앤더슨 캔서 센터 스템
셀 트랜스플랜테이션 앤 셀 셰러피 내
쉬팔 엘리자베스
미국 텍사스주 77030 휴스턴 홀콤 블러바드 1515
유닛 # 0065 유.티.엠.디. 앤더슨 캔서 센터 스템
셀 트랜스플랜테이션 앤 셀 셰러피 내
(74) 대리인
장훈

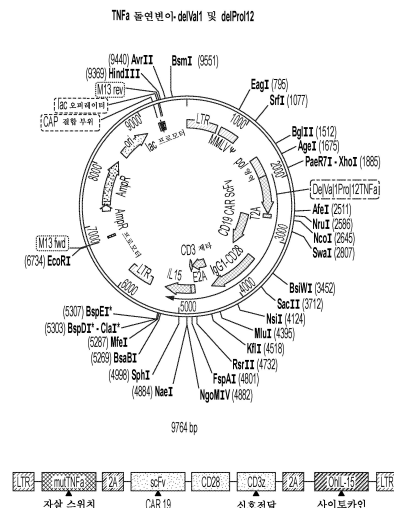
전체 청구항 수 : 총 47 항

(54) 발명의 명칭 자살 유전자

(57) 요약

본 발명의 실시양태는 비분비성이고 막결합된 특정 TNF-알파 돌연변이를 포함하여, 해당 돌연변이를 발현하는 세포에서 억제를 위한 표적을 제공한다. 특정 실시양태에서, 상기 TNF-알파 돌연변이는 대상체를 위한 입양 세포 요법에 사용되는 세포에서 자살 유전자로서 이용되며, 여기서 막결합된 TNF-알파에 결합하여 상기 세포에 대한 보체 의존성 세포독성을 유도하는 하나 이상의 항-TNF-알파 항체들을 소정의 시간에 대상체에게 제공한다. 또한, 상기 TNF-알파 돌연변이는 생체 내에서 형질도입된 세포를 추적하는 방법으로도 사용할 수 있다.

대표도 - 도2a



(52) CPC특허분류

A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/525 (2013.01)
C07K 14/705 (2013.01)
C12N 15/85 (2013.01)
C12N 2510/00 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/773,372 2018년11월30일 미국(US)
62/791,464 2019년01월11일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

하나 이상의 유전자 조작된 (engineered) 비분비성 종양 괴사 인자 (TNF)-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산 및 하나 이상의 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산을 포함하는 형질도입된 세포를 포함하는 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 서열번호 8에서 하기의 결실을 포함하는 것인, 조성물:

아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 12;

아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 13;

아미노산 잔기 1-12;

아미노산 잔기 1-13; 또는

아미노산 잔기 -1 내지 13.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 치료 유전자 산물이 유전자 조작된 수용체인 것인, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 (CAR), 사이토카인 수용체, 호밍 (homing) 수용체 또는 케모카인 수용체인 것인, 조성물.

청구항 5

제3항 또는 제4항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 암항원을 표적으로 하는 것인, 조성물.

청구항 6

제3항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 하나 이상의 보조자극 도메인을 포함하는 CAR인 것인, 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 하나 이상의 보조자극 도메인이 CD28, DAP12, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), Dap10, CD27, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), Lck, TNFR-I, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산과 상기 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산이 동일한 핵산 분자인 것인, 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산과 상기 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산이 서로 다른 핵산 분자인 것인, 조성물.

청구항 10

제8항 또는 제9항에 있어서, 상기 핵산 분자가 벡터인 것인, 조성물.

청구항 11

제10항에 있어서, 상기 벡터가 바이러스 벡터 또는 비바이러스 벡터인 것인, 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 바이러스 벡터가 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터 또는 아데노 연관 바이러스 벡터인 것인, 조성물.

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 비바이러스 벡터가 플라스미드, 지질 또는 트랜스포존인 것인, 조성물.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 면역 세포 또는 줄기 세포인 것인, 조성물.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 면역 세포가 T 세포, NK 세포, NKT 세포, iNKT 세포, B 세포, 조절 T 세포, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포 또는 중간엽 기질 세포인 것인, 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 서열번호 1, 서열번호 3, 서열번호 5, 서열번호 39 또는 서열번호 41을 포함하는 것인, 조성물.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 서열번호 2, 서열번호 4, 서열번호 6, 서열번호 38 또는 서열번호 40을 포함하는 서열에 의해 코딩되는 것인, 조성물.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 외부에서 제공된 사이토카인을 발현하는 것인, 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 사이토카인이 IL-7, IL-2, IL-15, IL-12, IL-18, IL-21 또는 이들의 조합인 것인, 조성물.

청구항 20

제18항 또는 제19항에 있어서, 상기 사이토카인이 TNF-알파 돌연변이 유전자와 동일한 벡터로부터 코딩되는 것인, 조성물.

청구항 21

제18항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 사이토카인이 TNF-알파 돌연변이로서 개별 폴리펩타이드 분자로 발현되고, 해당 세포에 대해 유전자 조작된 수용체로서 개별 폴리펩타이드 분자로 발현되는 것인, 조성물.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 해당 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드의 TNF 수용체로의 결합을 방지하는 하나 이상의 추가의 돌연변이가 결합되어 있는 것인, 조성물.

청구항 23

유전자 조작된 비분비성 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 발현하는 형질도입된 세포에 대한 사멸을 유도하는

방법으로서, 형질도입된 세포 상의 TNF-알파 돌연변이에 결합하는 하나 이상의 제제의 유효량을 제공하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 TNF-알파에 결합하는 제제가 항체, 저분자, 폴리펩타이드, 핵산 또는 이들의 조합인 것인, 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 항체가 단일클론 항체인 것인, 방법.

청구항 26

제23항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 세포가 유전자 조작된 수용체를 추가로 발현하는 것인, 방법.

청구항 27

제26항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 T 세포 수용체 또는 CAR인 것인, 방법.

청구항 28

제26항 또는 제27항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 암항원을 표적으로 하는 것인, 방법.

청구항 29

제23항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 방법을, 의학적 질환이 있는 대상체 중에서, 그리고 상기 의학적 질환에 대해 복수의 형질도입된 세포를 포함하는 요법을 받았던 적이 있는 대상체 중에서 생체내 수행하는 것인, 방법.

청구항 30

제29항에 있어서, 상기 의학적 질환이 암인 것인, 방법.

청구항 31

제29항 또는 제30항에 있어서, 상기 요법으로 인해 하나 이상의 이상 사례가 개시될 때 해당 대상체에게 상기 제제를 제공하는 것인, 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 대상체가 사이토카인 방출 증후군, 신경독성, 아나필락시스/알레르기, 및/또는 표적 정확 (on-target)/종양 독성 부정확 (off tumor toxicity) 중 하나 이상의 증상을 나타내는 것인, 방법.

청구항 33

제29항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 해당 대상체에 의학적 질환에 대한 추가의 요법이 제공된 적이 있거나, 제공되거나, 또는 제공될 것인, 방법.

청구항 34

제23항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 TNF-알파 돌연변이가 폴리펩타이드가 해당 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드의 TNF 수용체로의 결합을 방지하거나 역 신호전달을 방지하는 하나 이상의 추가의 돌연변이를 결합하고 있는 것인, 방법.

청구항 35

비분비성 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포로 세포 요법을 받은 적이 있고/있거나 받고 있는 대상체에서 사이토카인 방출 증후군의 영향을 감소시키는 방법으로서, 상기 돌연변이와 결합하여 해당 대상체에서 (a) 세포 요법의 세포들 중 적어도 일부의 제거; 및 (b) 가용성 TNF-알파 수준의 감소를 유도하는 하나 이상의 제제의 유효

량을 제공하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

청구항 36

대상체에 대한 세포 요법의 독성 위험을 감소시키는 방법으로서, 세포 요법의 세포들을 변형시켜 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 발현하도록 하는 단계를 포함하는 것인, 방법.

청구항 37

제36항에 있어서, 상기 세포 요법이 암에 대한 것인, 방법.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, 상기 세포 요법이 항원을 표적으로 하는 유전자 조작된 수용체를 포함하는 것인, 방법.

청구항 39

비분비성 TNF-알파 돌연변이를 코딩하고 유전자 조작된 수용체를 코딩하는 서열을 포함하는 벡터.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 비분비성 TNF-알파 돌연변이 및 유전자 조작된 수용체가 별개의 폴리펩티드로서 벡터로부터 코딩되는 것인, 벡터.

청구항 41

제39항 또는 제40항에 있어서, 상기 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 코딩하는 벡터의 서열과 상기 유전자 조작된 수용체를 코딩하는 벡터의 서열이 2A 요소 또는 IRES 요소에 의해 해당 벡터 상에서 분리되어 있는 것인, 벡터.

청구항 42

제39항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유전자 조작된 수용체가 CAR인 것인, 벡터.

청구항 43

제39항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 벡터가 추가로 사이토카인을 코딩하는 것인, 벡터.

청구항 44

제43항에 있어서, 상기 사이토카인이 IL-7, IL-2, IL-15, IL-12, IL-18 또는 IL-21인 것인, 벡터.

청구항 45

제43항 또는 제44항에 있어서, 상기 사이토카인이 상기 TNF-알파 돌연변이 및 상기 유전자 조작된 수용체로서 벡터로부터 별개의 폴리펩타이드로 발현되는 것인, 벡터.

청구항 46

서열번호 15를 포함하는 핵산 서열을 포함하는 물질의 조성물.

청구항 47

서열번호 16을 포함하는 핵산 서열을 포함하는 물질의 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 미국 가특허출원 62/769,405호 (2018년 11월 19일 출원); 미국 가특허출원 62/773,372호 (2018년 11월 30일 출원); 및 미국 가특허출원 62/791,464호 (2019년 1월 11일 출원)에 대한 우선권을 주장하며, 상기 특허 출원들은 그 전문이 본원에 참고로 포함된다.

- [0002] 서열 목록
- [0003] [0001.1] 본 출원은 ASCII 형식의 전자문서로 제출된 서열 목록을 포함하는데, 해당 목록 전체가 본원에 참조로 포함된다. 2019년 11월 13일에 생성한 상기 ASCII 복사본은 파일명이 UTF8_P1151WO_SL.txt로서, 크기는 108,130 바이트이다.
- [0004] 기술 분야
- [0005] [0002] 본 발명의 실시양태들은 적어도 세포 생물학, 분자 생물학, 면역학, 세포 치료 및 의학 분야를 망라한다.

배경 기술

- [0006] [0003] 키메라 항원 수용체 (CAR) 유전자 조작 및 T 세포 수용체 (TCR) 형질도입된 T 세포들을 사용한 입양 세포 요법은 표적 정확(on-target)/종양 독성 부정확(off tumor toxicities)한 경우 뿐만 아니라 사이토카인 방출 증후군과 신경독성과 같은 중증 이상 사례들에 대한 보고와 관련이 있다. 입양 세포 요법으로 치료하는 환자들 의 수가 증가함에 따라, 입양 요법으로 주입된 세포들을 독성에 맞서 선택적으로 제거할 수 있는 안전성 기작을 포함시키는 것이 유용하다.
- [0007] [0004] 본 발명은 세포 요법을 위한 안전성 기작 분야에서의 오랜 기술적 숙원에 대한 해결책을 제공한다.

발명의 내용

- [0008] [0005] 본 발명의 실시양태는 세포 요법을 제어하는 안전성 기작을 포함하는 세포 요법과 관련된 시스템, 방법 및 조성물에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 독특한 자살 유전자를 임의 종류의 세포 요법과 함께 사용하여 해당 세포 요법의 사용을 조절해 원하는 사건 및/또는 시간에서 해당 세포 요법의 종료를 제어할 수 있다. 자살 유전자는 필요에 따라 형질도입된 세포들에 대한 사멸을 유도할 목적으로 상기 형질도입된 세포들에 사용된다. 특정 실시양태에서, 자살/고갈 유전자는 자연에서 TNF를 절단하는 표준 효소, 예컨대 TNF-알파-전환 효소 (TACE라고도 함)에 의해 절단될 수 없는 종양 괴사 인자 (TNF)-알파 돌연변이가 있다. 이러한 이유로, TNF-알파 돌연변이는 특정 실시양태에서 막걸합된 비활성 및 비분비성이다. 본 발명의 TNF-알파 돌연변이는 적어도 항체를 포함하는, 돌연변이에 결합하는 하나 이상의 제제에 의해 표적으로 삼을 수 있어서, 해당 제제(들)이 세포 표면 상의 TNF-알파 돌연변이에 결합한 후, 해당 세포는 사멸한다. 본 발명의 실시양태들에서는 TNF-알파 돌연변이는 이를 발현하는 세포에 대한 마커로서 이용될 수 있다.
- [0009] [0006] 본 발명의 실시양태는 하나 이상의 유전자 조작된 (engineered) 비분비성 종양 괴사 인자 (TNF)-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산 및 하나 이상의 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산을 포함하는 형질도입된 세포를 포함하는 조성물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드는 서열번호 8과 관련하여 하기의 결실을 포함한다: 아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 12; 아미노산 잔기 1 및 아미노산 잔기 13; 아미노산 잔기 1-12; 아미노산 잔기 1-13; 또는 아미노산 잔기 1-14. 조성물의 치료 유전자 생성물은 유전자 조작된 수용체, 예컨대 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 (CAR), 사이토카인 수용체, 호밍 수용체 또는 케모카인 수용체일 수도 있고 아닐 수도 있다. 상기 유전자 조작된 임의의 수용체들은 암항원과 같은 항원을 표적으로 삼을 수도 있고 그렇지 않을 수도 있다. 상기 유전자 조작된 수용체가 CAR인 경우, 상기 CAR은 하나 이상의 보조자극 도메인, 예컨대 CD28, DAP12 또는 이들 양자 모두를 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.
- [0010] [0007] 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산과 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산은 동일한 핵산 분자이지만, TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산과 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산은 서로 다른 핵산 분자들일 수 있다. 어떤 경우라도, 핵산 분자는 바이러스 벡터 (레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터, 아데노바이러스 벡터 또는 아데노 연관 바이러스 벡터) 또는 비바이러스 벡터, 예컨대 플라스미드, 지질, 트랜스포존 또는 이들의 조합을 포함하는 비바이러스 벡터일 수 있다.
- [0011] [0008] 본 발명 조성물의 형질도입된 세포는, 예를 들어 면역 세포 또는 줄기 세포일 수 있다. 면역 세포의 예로는 T 세포, NK 세포, NKT 세포, iNKT 세포, B 세포, 조절 T 세포, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포 또는 중간엽 기질 세포를 포함한다. 상기 세포는 외인성으로 제공된 하나 이상의 사이토카인, 예컨대 IL-15, IL-12, IL-18, IL-21 또는 이들의 조합을 발현하거나 발현하지 않을 수 있다. 사이토카인은 TNF-알파 돌연변이 유전자와 동일한 벡터로부터 코딩되거나 코딩되지 않을 수 있다. 어떤 경우에는, 사이토카인은 TNF-알파 돌연변이 및 해당 세포에 대해 유전자 조작된 수용체로서 별도의 폴리펩타이드 분자로서 발현된다.

- [0012] [0009] 본 발명의 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드는 서열번호 1, 서열번호 3, 서열번호 5, 또는 서열번호 39를 포함한다. TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드는 서열번호 2, 서열번호 4, 서열번호 6, 또는 서열번호 38을 포함하는 서열에 의해 코딩될 수 있다. 특정 양태에서, TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드는 해당 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 TNF 수용체에 결합하는 것을 방지하는 하나 이상의 추가의 돌연변이가 결합되어 있다.
- [0013] [0010] 본 발명의 실시양태는 적어도 유전자 조작된 비분비성 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 발현하고 임의로는 치료 유전자, 예컨대 유전자 조작된 수용체를 발현하는 형질도입된 세포에 대한 사멸을 유도하는 방법으로서, 상기 방법이 형질도입된 세포 상의 TNF-알파 돌연변이에 결합하는 하나 이상의 제제의 유효량을 제공하는 단계를 포함하는, 방법을 포함한다. TNF-알파에 결합하는 제제는, 예를 들어 항체, 저분자, 폴리펩타이드, 핵산 또는 이들의 조합일 수 있다. 상기 제제가 항체인 경우, 상기 항체는 적어도 단일클론 항체를 포함하는 임의 종류의 것일 수 있다. 상기 방법에서, 세포는 유전자 조작된 수용체, 예컨대 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 (CAR), 사이토카인 수용체, 호밍 수용체 또는 케모카인 수용체를 추가로 발현할 수 있다. 상기 유전자 조작된 임의의 수용체는 암이나 다른 항원에 결합할 수 있다. 어떤 경우에는, 상기 방법은 의학적 질환이 있고 의학적 질환에 대한 복수의 형질도입된 세포를 포함하는 치료를 받았던 적이 있는 대상체 중에서 생체 내 수행한다. 상기 의학적 질환은 임의의 모든 종류일 수 있지만, 특정한 경우에 상기 의학적 질환은 암이다. 제제는 하나 이상의 치료 이상 사례가 개시되거나 이상 사례가 발생하는 것으로 의심되는 경우에 해당 대상체에 제공될 수 있다. 대상체는 사이토카인 방출 증후군, 신경독성, 아나필락시스/알레르기, 및/또는 표적 정확/중양 독성 부정확 중 하나 이상의 증상을 나타낼 수 있다. 경우에 따라서는, 해당 대상체는 의학적 질환에 대한 추가의 요법이 제공된 적이 있거나, 제공되거나, 또는 제공될 것이다. 본 발명의 특정 양태에서, TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드는 해당 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드가 TNF 수용체에 결합하는 것을 방지하거나 또는 역 신호 전달을 방지하는 하나 이상의 추가의 돌연변이가 결합되어 있거나 이를 포함한다.
- [0014] [0011] 본 발명의 실시양태는 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포로 세포 요법을 받은 적이 있고/있거나 받고 있는 대상체에서 사이토카인 방출 증후군의 영향을 감소시키는 방법을 포함하는데, 상기 방법은 상기 돌연변이와 결합하여 해당 대상체에서 (a) 세포 요법의 세포들 중 적어도 일부의 제거; 및 (b) 가용성 TNF-알파 수준의 감소를 유도하는 하나 이상의 제제의 유효량을 제공하는 단계를 포함한다.
- [0015] [0012] 본 발명의 실시양태는 세포 요법의 세포들을 변형시켜 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 발현하도록 하는 단계를 포함하는, 대상체에 대한 세포 요법의 독성 위험을 감소시키는 방법을 포함한다. 상기 세포 요법은, 예를 들어 암에 대한 것일 수 있다. 상기 세포 요법은 항원을 표적으로 삼는 유전자 조작된 수용체를 포함할 수 있다.
- [0016] [0013] 특정 실시양태는 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 코딩하고 유전자 조작된 수용체를 코딩하는 서열을 포함하는 벡터를 포함한다. 상기 비분비성 TNF-알파 돌연변이 및 유전자 조작된 수용체는 벡터로부터 별도의 폴리펩타이드로서 코딩되거나 코딩되지 않을 수 있다. 어떤 경우에는, 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 코딩하는 벡터의 서열과 유전자 조작된 수용체를 코딩하는 벡터의 서열이 2A 요소 또는 IRES 요소에 의해 벡터 상에서 분리된다. 벡터는 IL-15, IL-12, IL-18, IL-2, IL-7 또는 IL-21과 같은 사이토카인을 추가로 코딩하거나 코딩하지 않을 수 있다. 사이토카인은 TNF-알파 돌연변이 및 유전자 조작된 수용체와 같은 별도의 폴리펩타이드로서 벡터로부터 발현될 수 있다.
- [0017] [0014] 본 발명의 실시양태는 서열번호 15 또는 서열번호 16을 포함하는 핵산 서열을 포함하는 물질의 조성물을 포함한다.
- [0018] [0015] 특히, 본 발명의 한 실시양태와 관련하여 논의된 임의의 제한은 본 발명의 임의의 다른 실시양태에도 적용될 수 있다. 또한, 본 발명의 임의의 조성물은 본 발명의 임의의 방법에서 사용될 수 있고, 본 발명의 임의의 방법은 본 발명의 임의의 조성물을 제조하거나 이용하는데 사용될 수 있다. 또한, 실시예에 제시된 실시양태의 양태들은 발명의 개요, 상세한 설명, 청구범위 및 도면의 간단한 설명과 같이, 다른 실시예 또는 본 출원의 다른 곳에서 논의된 실시양태들의 내용에서도 구현될 수 있는 실시양태이다.
- [0019] [0016] 상술한 내용들은 하기의 상세한 설명이 보다 잘 이해될 수 있게 하기 위해 본 발명의 특징과 기술적 이점들을 개략적으로 살펴본 것이다. 본원 청구범위의 요지를 형성하는 추가적인 특징과 이점들에 대해서는 이하에 설명할 것이다. 당해 분야의 통상의 기술자라면 누구나, 본 발명의 동일한 목적을 수행하기 위한 다른 구조들을 변형 또는 설계하기 위한 기초로서 여기에 개시되는 개념 및 구체적인 실시양태들을 쉽게 이용할 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 또한, 당해 분야의 통상의 기술자라면 누구나, 이러한 균등한 구성이 첨부된 청구

범위에 기재된 사상과 범위를 벗어나지 않을 것임도 이해할 수 있을 것이다. 본 발명의 구성과 조작 방법 모두와 관련하여 본원에 개시된 본 발명의 특징인 것으로 간주되는 신규한 특징들과 추가의 목적 및 이점들은, 첨부하는 도면들을 참고로 하여 숙고해 보면 하기 설명으로부터 보다 잘 이해될 것이다. 그러나, 각 도면들은 예시 및 설명의 목적으로만 제공되는 것일 뿐, 본 발명의 범위를 규정하려는 것이 아니라는 점을 명백히 알아야 할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0017] 본 발명을 보다 완전하게 이해하기 위해, 첨부된 도면과 관련하여 주어진 하기 설명에 대해 살펴볼 것이다.

[0018] 도 1은 막 절단 부위들을 제거하기 위해 TNF-알파에 돌연변이를 일으키는 실험 계획의 일례이다. 페레즈(Perez) 등 (1990)은 TNF-알파의 세포의 부분의 1번 위치의 발린과 12번 위치의 프롤린의 결실이 생물학적으로 활성이지만 절단불가한 TNF-알파를 만들어내는 것으로 보고한 바 있다. 좌측 패널에서 밑줄친 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 서열에서 돌연변이 유발 동안 결실된 229-279번 위치에 해당하는 뉴클레오타이드를 보여주고 있다. 야생형 프라이머 TCGAGAAGATGATCTGACTGCCTGGGCCAGAGG는 서열번호 42이고, Del VAL1 돌연변이 프라이머 TCG AGA AGA TGA TCT TGC CTG GGC CAG AGG-3은 서열번호 43이며, CP496 올리고뉴클레오타이드 TGA TCT TGC CTG는 서열번호 44이다. 야생형 프라이머 TAC AAC ATG GGC TACAGGCTTGTCCTCGGGT는 서열번호 45이고, Del PRO 12 돌연변이 프라이머 TAC AAC ATG GGC TAC CTT GTC ACT CGG GGT는 서열번호 46이며, CP498 올리고뉴클레오타이드 GGC TAC CTT GTC는 서열번호 47이다. 상기 페레즈 등 (1990)의 서열 CAGGCAGTCAGATCATCTCTCGAACCCGAGTGACAAGCCTGTAGCC는 서열번호 48이고, 서열 QAVRSSSRTPSDKPVA는 서열번호 49이다.

[0019] 도 2a는 TNF-알파 돌연변이 (delVal1 및 delPro112)와 CD19-특이적 키메라 항원 수용체 (CAR)의 한 예 (위 패널)를 개별적으로 코딩하는 벡터의 일례를 예시한 것이다. 아래 패널은 돌연변이 TNF-알파가 CAR 분자와 사이토카인 모두로부터 개별 폴리펩타이드로 코딩되는 벡터 구성의 일례를 나타낸 것이다. 도 2b는 TNF-알파 돌연변이 (delVal13), CAR의 한 예 및 사이토카인을 개별적으로 코딩하는 벡터의 일례를 예시한 것이다. 도 2c는 TNF-알파 돌연변이 (delVal1 및 delVal13) 및 CAR의 한 예를 개별적으로 코딩하는 벡터의 일례를 예시한 것이다. 도 2d는 (Val 1 내지 Val 13에 걸친 13 aa가 결실된) TNF-알파 돌연변이 및 CAR의 한 예를 개별적으로 코딩하는 벡터의 일례를 예시한 것이다. 도 2e는 TNF-알파 돌연변이 (Ala-1 내지 Val13에 걸친 14 aa가 결실된 delAla-1 내지 delVal13) 및 CAR의 한 예를 개별적으로 코딩하는 벡터의 일례를 예시한 것이다.

[0020] 도 3은 TNF-알파 돌연변이와 CAR를 모두 개별적으로 코딩하는 작제물을 갖는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 이들의 표면 상에서 CAR와 TNF-알파를 모두 발현하고 있음을 보여주는 것이다.

[0021] 도 4a는 TNF-알파 억제제의 예들을 예시한 것이다.

[0022] 도 4b는 TNF-알파 돌연변이와 CAR를 모두 개별적으로 코딩하는 작제물을 갖는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 TNF-알파 길항제에 의해 표적화되어 보체 의존성 세포독성 (CDC)에 의해 제거됨을 입증한 것이다. 돌연변이 TNF-알파를 발현하는 NK 세포의 70% 이상은 인플릭시맵 처리 후 90분 이내에 CDC에 의해 제거된다.

[0023] 도 5a는 TNF-알파 돌연변이와 CAR를 모두 개별적으로 코딩하는 작제물을 갖는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 라지(Raji) 표적물에 반응하여 CAR19-NK 세포보다 더 많은 효과기 사이토카인을 생성하고 보다 효율적으로 탈과립됨을 보여주는 것이다. 도 5b는 TNF-알파 돌연변이와 CAR 작제물을 모두 개별적으로 코딩하는 작제물을 갖는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 라지 표적물을 효율적으로 사멸시킴을 보여주는 것이다.

[0024] 도 6은 CD19-특이적 CAR과 TNF-알파 돌연변이를 개별적으로 발현하는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 표적의 활성을 나타내지 않음을 입증한 것이다.

[0025] 도 7은 CD19-특이적 CAR과 TNF-알파 돌연변이를 개별적으로 발현하는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 표적의 활성을 나타내지 않으며 비특이적으로 TNF-알파를 분비하지 않음을 입증한 것이다.

[0026] 도 8은 TNF 수용체 1과 2 대 TNF-알파 항체인 인플릭시맵과 아달리무맵에 대한 TNF-알파 수용체 결합 부위들이 서로 다르다는 것을 보여주는 것이다. 본 도면에서의 서열은 서열번호 50이다.

[0027] 도 9는 언급된 도메인을 갖는 TNF-알파의 구조를 제시하고 있다. 본 도면에서의 서열은 나타낸 순서대로 각각 서열번호 17, 54-59, 51, 18 및 18-21이다.

[0028] 도 10은 TNF 수용체 1과 TNF 수용체 2에 대한 결합을 방해하는 추가의 돌연변이의 6가지 예들 (이러한 돌연변이 서열들은 이중 밑줄로 표시함) 이외에도, 세포질 도메인에서 카제인 키나제 I (CKI) 컨센서스 서열 (밑줄친 부분)의 돌연변이와 (Ala-1의 결실 내지 도식되지 않은 Val13의 결실 (양끝점 포함) 이외에) Ala-3 및 Gln-2의 결실과 조합하는 TNF-알파 돌연변이를 예시한 것이다. 본 도면에서의 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 52이고, 본 도면에서의 폴리펩타이드 서열은 서열번호 53이다.

[0029] 도 11a-11b는 TNF-알파 돌연변이-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 NK 세포의 항종양 활성이 iC9-CAR19-IL15 작제물보다 우수함을 입증하는 것이다. 도 11a에서, 라지 종양이 있는 NSG 마우스는 TNF-알파 돌연변이-CAR19-IL15 작제물 또는 iC9-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 3×10^6 개의 CAR 제대혈 NK 세포들을 투여받았다. 도 11b는 시간의 경과에 따른 생존율을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0021] [0030] 본 발명은 미국 가특허출원 62/769,414호 (2018년 11월 19일 출원); 미국 가특허출원 62/773,394호 (2018년 11월 30일 출원); 및 미국 가특허출원 62/791,491호 (2019년 1월 11일 출원)를 인용하여 본원에 포함시킨다.

[0022] [0031] 본원 명세서에서 사용되는 단수형 명사 ("a" 또는 "an")는 하나 이상을 의미할 수도 있다. 본원의 청구항에서 사용되는 단수형 명사 ("a" 또는 "an")는 "포함하는"이라는 단어와 함께 사용되는 경우, 하나 또는 하나 이상을 의미할 수 있다. 본원에서, "또 다른"이라는 말은 두번째 또는 그 이상의 경우를 의미할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 양태들은, 예를 들어 본 발명의 하나 이상의 서열들로 "필수적으로 이루어지거나" 또는 "이들로 이루어질" 수 있다. 본 발명의 일부 실시양태들은 본 발명의 하나 이상의 구성요소, 방법 단계 및/또는 방법들로 이루어지거나 이들로 필수적으로 이루어질 수 있다. 본 명세서에 기재된 임의의 방법 또는 조성물은 본 명세서에 기재된 임의의 다른 방법 또는 조성물에 대해 실시될 수 있는 것으로 고려된다. 본 출원의 범위는 본 명세서에 기술된 공정, 기계, 제조, 물질의 조성, 수단, 방법 및 단계들의 특정 실시양태들로 한정되지는 않는다. 본원에 사용된 바와 같이, "또는" 및 "및/또는"이라는 용어들은 서로 조합하거나 또는 서로 배타적으로 다수의 구성요소들을 설명하는데 이용된다. 예를 들어, "x, y 및/또는 z"는 "x" 단독, "y" 단독, "z" 단독, "x, y 및 z", "(x 및 y) 또는 z", "x 또는 (y 및 z)" 또는 "x 또는 y 또는 z"를 지칭할 수 있다. 특히, x, y 또는 z는 어떤 실시양태에서는 특별히 배제될 수 있는 것으로 고려된다.

[0023] [0032] 본 출원 전반에 걸쳐, "약"이라는 용어는, 세포 및 분자 생물학 분야에서 해당 값을 측정하는데 사용되는 장치 또는 방법에 대한 오차의 표준 편차를 포함함을 나타내기 위해 평범하고 일상적인 의미로서 사용된다.

[0024] [0033] 본원에 사용된 "유전자 조작된 (engineered)"이라는 용어는 세포, 핵산, 폴리펩타이드, 벡터 등을 비롯한, 인간의 손에 의해 생성되는 실체를 가리킨다. 적어도 경우에 따라서는, 유전자 조작된 실체는 합성되는 것으로, 자연에서는 존재하지 않거나 또는 본 발명에서 이용되는 방식으로 구성되지 않는 구성요소들을 포함한다.

[0025] 본 명세서에 전반에 걸쳐 "한 실시양태", "실시양태", "특정 실시양태", "관련 실시양태", "어떤 실시양태", "추가적인 실시양태" 또는 "추가 실시양태"에 대한 언급은, 해당 실시양태와 관련하여 설명된 구체적인 특징, 구조 또는 특성이 본 발명의 적어도 하나의 실시양태에 포함된다는 것을 의미한다. 따라서, 본 명세서에 전반에 걸쳐 다양한 부분에서 나타나는 상술한 어구들은 모두 반드시 동일한 실시양태를 가리키는 것은 아니다. 또한, 구체적인 특징, 구조 또는 특성들은 하나 이상의 실시양태에서, 임의의 적절한 방식으로 조합할 수 있다.

I. [0035] 일반적인 실시양태

[0027] [0036] 본 발명의 실시양태들은 종료될 세포 요법을 대비할 방법 및 조성물에 관한 것이다. 본 발명은 26 kd TNF-알파의 절단불가한 돌연변이를 기반으로 한, 세포 요법을 위한 마커 모이어티 및 자살/고갈 모이어티를 모두 제공한다. 상기 TNF-알파 돌연변이는 절단불가하여 막에 결합된 상태로 있어 분비되지 않는다. 절단불가한 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포들은, 예를 들어 에타너셉트, 인플릭시맵 또는 아달릴루맵과 같은 현재 임상에서 FDA 승인된 TNF- α 항체들을 사용하는 것을 비롯한 선택적 결실을 위해서 표적으로 삼을 수 있다. 상기 돌연변이된 TNF-알파 폴리펩타이드는 하나 이상의 치료 이식유전자들, 예컨대 TCR 또는 CAR을 코딩하는 유전자와 공동 발현될 수도 있다. 또한, 상기 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포들은 막결합된 TNF-알파 단백질의 생물학적 활성에 의해 매개되는, 종양 표적물에 대해 월등한 활성을 가진다.

II. [0037] TNF-알파 돌연변이

- [0029] [0038] 본 발명은 특정 세포에서 TNF-알파 돌연변이의 발현으로 해당 돌연변이 TNF가 그에 결합하는 제제에 의해 표적화를 가능하게 함으로써, 특정 TNF-알파 돌연변이를 보유하는 세포들에 대한 사멸을 야기하는 TNF-알파의 돌연변이를 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 돌연변이 TNF-알파 폴리펩타이드는 하나 이상의 돌연변이로 인해 절단불가하고 비분비성이며, 이러한 절단불가 및 비분비성 폴리펩타이드는 상기 돌연변이 TNF-알파가 막결합성이 되도록 만든다. 세포에서 막결합된 TNF-알파의 결합은 상기 막결합된 TNF-알파가 억제제를 비롯한 직접 또는 간접적으로 그에 결합하는 제제에 의해 표적화되는 경우에 해당 세포를 사멸시킬 수 있다. TNF-알파 억제제가 항체인 실시양태에서, 해당 세포는 보체 의존성 세포독성에 의해 사멸할 수 있고, TNF-알파 억제제가 항체가 아닌 실시양태에서는, 해당 세포는 아포토시스와 같은 다른 기작에 의해 사멸할 수 있다.
- [0030] [0039] 이에, 돌연변이의 특정 실시양태에서, 막 절단 부위(들)을 제거함으로써, 해당 세포 상에서의 표면 발현을 유지시키고 해당 세포가 파괴를 위해 표적화되는 능력을 부여한다. 따라서, 본 발명은 형질도입된 세포들의 선택적 결실을 위한 자살 유전자로서 돌연변이 막결합 TNF-알파를 고려하는 것이다.
- [0031] [0040] TNF-알파는 26 kD의 막형단 형태와 17 kD의 분비 성분을 함유하고 있다. 본원에서 도 1 (우측 패널, 문헌 [Perez *et al.* (1990)])은 본 발명에 포함되는 일부 돌연변이들을 예시한 것이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 TNF-알파 돌연변이의 예들에는 17 kD TNF에 대하여 적어도 다음을 포함한다: (1) Val1의 결실 및 Pro112의 결실; (2) Val13의 결실; (3) Val1의 결실 및 Val13의 결실; (4) Val1의 결실 내지 Pro112, 및 Val13의 결실 (13 aa 결실); (5) Ala-3의 결실 내지 Val 13의 결실 (16 aa 결실); (6) Ala-1의 결실 내지 Val13의 결실 (14 aa 결실) (상기에서 양끝점 포함). 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이는 -3, -2, -1, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13번 위치에서 각각 아미노산의 결실 또는 이들의 조합을 포함한다. 구체적인 조합으로는 -3 내지 13; -3 내지 12; -3 내지 11; -3 내지 10; -3 내지 9; -3 내지 8; -3 내지 7; -3 내지 6; -3 내지 5; -3 내지 4; -3 내지 3; -3 내지 2; -3 내지 1; -3 내지 -1; -3 내지 -2; -2 내지 13; -2 내지 12; -2 내지 11; -2 내지 10; -2 내지 9; -2 내지 8; -2 내지 7; -2 내지 6; -2 내지 5; -2 내지 4; -2 내지 3; -2 내지 2; -2 내지 1; -2 내지 -1; -1 내지 13; -1 내지 12; -1 내지 11; -1 내지 10; -1 내지 9; -1 내지 8; -1 내지 7; -1 내지 6; -1 내지 5; -1 내지 4; -1 내지 3; -1 내지 2; -1 내지 1; 1 내지 13; 1 내지 12; 1 내지 11; 1 내지 10; 1 내지 9; 1 내지 8; 1 내지 7; 1 내지 6; 1 내지 5; 1 내지 4; 1 내지 3; 1 내지 2번 위치 등에서의 결실을 포함한다.
- [0032] [0041] TNF-알파 돌연변이는 임의의 적절한 방법에 의해 생성될 수 있지만, 특정 실시양태에서 이들은 부위 지정 돌연변이 유발법에 의해 생성된다. 경우에 따라서는, TNF-알파 돌연변이는 해당 단백질을 절단불가하게 만드는 것들 이외의 돌연변이를 가질 수 있다. 구체적인 경우로, TNF-알파 돌연변이는 Val1, Pro12 및/또는 Val13에서의 결실 또는 이들 사이의 영역이 아닌 1, 2, 3개 또는 그 이상의 돌연변이를 가질 수 있다. 해당 돌연변이를 비분비성으로 만드는 것들 이외의 돌연변이는 아미노산 치환, 결실, 부가, 역전 등 중에서 하나 이상일 수 있다. 추가적인 돌연변이가 아미노산 치환인 경우, 상기 치환은 예를 들어 보존적 아미노산에 대한 것일 수도 있고 아닐 수도 있다. 경우에 따라서는, 1, 2, 3, 4, 5개 또는 그 이상의 추가적인 아미노산이 해당 단백질의 N-말단 및/또는 C-말단에 존재할 수 있다. 경우에 따라서는, TNF-알파 돌연변이는 (1) 해당 돌연변이를 비분비성으로 만드는 하나 이상의 돌연변이; (2) 해당 돌연변이에 대한 아웃사이드-인(outside-in) 신호전달을 방지하는 하나 이상의 돌연변이; 및/또는 (3) 해당 돌연변이의 TNF 수용체 1 및/또는 TNF 수용체 2에 대한 결합을 방해하여 이들을 불활성화시키는 하나 이상의 돌연변이를 가진다.
- [0033] [0042] TNF-알파 돌연변이 delVal1 delPro112 아미노산 서열
- [0034] [0043]
- [0035] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQARSSSRTPSDKVAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFGKGQCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (서열번호 1)
- [0036] [0044] TNF-알파 돌연변이- delVal1 del Pro112 핵산 서열
- [0037] [0045]
- [0038] atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacaggggggccccagggtccaggcggtgcttgttcctcagcctcttctccttctctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgactttggagtgatcgccccagagggaagattccccaggacctctctctaatcagccctctggccccaggcaagatcatcttctcgaaccccgagt gacaaggtagcccatgttgtagcaaaccctcaagctgaggggcagctccagtggtgaaccgcgggccaatgccctcctggccaatggcgtggagctgagagataaccagctgggtggccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtc

ctcttcaaggccaaggtgccctccaccatgtgtctcctcaccacaccatcagccgcatcgccgtctcctaccagaccaaggtcaacctcctctctgcc
atcaagagccctgccagaggagacccagagggggtgagccaagccctggatgagcccatctatctgggaggggtctccagctggagaagggtgac
cgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgcctgtcg (서열번호 2)

[0039] [0046] TNFα 돌연변이- del Val1 내지 Val13 아미노산 서열 (13 aa 결실)

[0040] [0047]

[0041] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLAN
GVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDY
LDAESGQVYFGI IAL (서열번호 3)

[0042] [0048] TNFα 돌연변이- del Val1 내지 Pro112 delVal13 (13 aa 결실) 핵산 서열

[0043] [0049]

[0044] atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacagggggggccccaggggtccaggcggtgcttgttctcagc
ctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacgtctct
ctaatacagccctctggcccaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcggggccaatgccctcctggccaat
ggcgtggagctgagagataaaccagctgggtggccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtcctcttcaaggccaaggtgccctccaccat
gtgctcctcaccacaccatcagccgcatcgccgtcctcctaccagaccaaggtcaacctcctctctgccatcaagagccctgccagaggagacccagag
ggggctgaggccaagccctggatgagcccatctatctgggaggggtcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactat
ctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgcctgtcg (서열번호 4)

[0045] [0050] TNF-알파 delVal1 delVal13 아미노산 서열

[0046] [0051]

[0047] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQARSSSRTPSDKPAHVVANPQAEGLQW
LNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGD
RLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGI IAL (서열번호 5)

[0048] [0052] TNF-알파 delVal1 delVal13 핵산 서열

[0049] [0053]

[0050] atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacagggggggccccaggggtccaggcggtgcttgttctcagc
ctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacgtctct
ctaatacagccctctggcccaggcaagatcatcttctgaaccccgagtgaacagctgcccattgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtgg
ctgaaccgcgggccaatgccctcctggccaatggcgtggagctgagagataaaccagctgggtggccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtc
ctcttcaaggccaaggtgccctccaccatgtgctcctcaccacaccatcagccgcatcgccgtctcctaccagaccaaggtcaacctcctctctgcc
atcaagagccctgccagaggagacccagagggggtgagccaagccctggatgagcccatctatctgggaggggtcttccagctggagaagggtgac
cgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgcctgtcg (서열번호 6)

[0051] [0054] TNF-알파 delAla-3 내지 Val 13 핵산 서열

[0052] [0055]

[0053] TCGAGTCGAGATGAGCACTGAAAGCATGATCCGGGACGTGGAGCTGGCCGAGGAGGCGCTCCCCAAGAAGACAGGGGGGCCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTT
GTTCTCAGCCTCTTCTCCTTCTGATCGTGGCAGGCGCCACCACGCTCTTCTGCTGTGCACTTTGGAGTGATCGCCCCCAGAGGGAAGAGTTCCCCAG
GGACCTCTCTAATCAGCCCTTGCAGGCAGCCCATGTTGTAGCAAACCTCAAGCTGAGGGGCAGCTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCAATGCCCTCCT
GGCAATGGCGTGGAGCTGAGAGATAAACCAGCTGGTGGTGCCATCAGAGGGCTGTACCTCATCTACTCCCAGGTCTCTTCAAGGGCCAAGGCTGCCCTC
CAGCATGTGCTCCTCAGCCACCATCAGCCGATCGCGCTCTCTACCAGACCAAGGTCAACCTCTCTGCCATCAAGAGCCCTGCCAGAGGGAGAC
CCCAGAGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGAGAAGGGTGACCGACTCAGCGCTGAGATCAATCGGCC
CGACTATCTCgACTTTGCCGAGTCTGGGCAGGTCTACTTTGGGATCATTGCCCTGTCTGTCG (서열번호 38)

[0054] [0056] TNF-알파 del Ala-3 및 Val 1 내지 Val 13의 결실(양끝점 포함) 아미노산 서열 (del -3 및 1-13의 결실 (-2 및 -1의 결실은 아님)):

[0055] [0057]

- [0056] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLSPLQAAHVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGGQCPSTHVLLTHTISRIVASYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYL DFAESGQVYFGI IAL (서열번호 39)
- [0057] [0058] 아웃사이드-인 신호전달을 방지하는 CIK 모티프 돌연변이 및 TNF 수용체 1과 TNF 수용체 2에 대한 TNF알파 결합을 방해하는 다른 돌연변이의 예 이외에, del Ala-3 내지 Val13 핵산 서열을 갖는 TNF-알파 돌연변이 (도 10 참조).
- [0058] [0059]
- [0059] ATGAGCACTGAAATGCATCCCGAAGGGGGTCTGGCACGAGGAGCGCTCCCAAGAAGACAGGGGGGCCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTTGTCTCTCAGCCTCTTCTCTTCTGATCGTGCGAGGCGCCACCACGCTCTTCTTCTGCTGCACTTTGGAGTGATCGGCCCCAGAGGAAGAGTTCCCCAGGGACCTCTCTAATCAGCCCTCTGGCCCATGTGTAGCAAACCTCAAGCTGAGGGGCGAGTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCCAATGCCCTCTGGCCATGGCGTGGAGCTGAGAGATAACAGCTGGTGGTGCCATCAGAGGGCTGTACCTCATCTACTCCCAGGTCTCTTCAAGGGCCAAGGTGCCCTCCACCCATGTGCTCCTCACCCACCATCAGCCGATCGCGTCTCCACCAGACCAAGGTCAACCTCTCTTCCGATCAAGAGCCCTGCCAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCTGAGGCCAAGCCCTGGTATGAGCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGAGAAGGGTGACCGACTCATCGCTGAGATCAATCGGCCGACTATCTCTACTTTGCCGAGTATGGGAGGTCTACTTTGGGATCATTGCCCTGTCG (서열번호 40)
- [0060] [0060] 서열번호 40에 의해 코딩된 del Ala-3 내지 Val13 아미노산 서열을 갖는 TNF-알파 돌연변이
- [0061] [0061]
- [0062] MSTEMHPGRGSWHEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLHFGVIGPQREEFPRDLSLSPLAHVAVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGGQCPSTHVLLTHTISRIVASHQTKVNLLFAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLIAEINRPDYL YFAEYGVYFGI IALS (서열번호 41)
- [0063] [0062] 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이는 Ala-3 내지 Val13의 결실을 포함할 수 있을 뿐만 아니라, CIK 모티프 돌연변이 및 TNF 수용체 1 및/또는 TNF 수용체 2에 대한 결합을 방해하는 돌연변이도 포함할 수 있다.
- [0064] [0063] 참고로, TNF 야생형, 26 kD 버전, 아미노산 서열
- [0065] [0064]
- [0066] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLSPLAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVNANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGGQCPSTHVLLTHTISRIVASYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYL DFAESGQVYFGI IAL (서열번호 7)
- [0067] [0065] 참고로, TNF 야생형, 17 kD 버전, 아미노산 서열
- [0068] [0066]
- [0069] VRSSSRTPSDKPVAVHVNANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGGQCPSTHVLLTHTISRIVASYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYL DFAESGQVYFGI IAL (서열번호 8)
- [0070] [0067] 세포내 TNF 신호전달 또는 TNF-수용체 결합 능력을 결여한 TNF-알파 돌연변이
- [0071] [0068] 이러한 돌연변이는 세포질 신호전달 도메인 및/또는 TNF-수용체 결합 영역에서 돌연변이를 가지므로, 역 신호전달 능력 및/또는 TNF-수용체에 결합하는 능력이 각기 결여되어 있기 때문에 어떠한 생물학적 활성도 나타내지 않는다. 이는 해당 작제물의 TNF-알파가 생물학적 활성을 나타내지 않으면서 TNF 억제제에 대한 표적이 될 수 있도록 한다.
- [0072] [0069] 본 발명의 일부 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이는 TNF-알파의 세포질내 도메인의 일부 또는 전부가 결여되어 있어, 해당 TNF-알파 돌연변이가 세포내 신호전달 (역 신호전달) 역량을 발휘할 수 없다. 비분비성 TNF-알파 돌연변이는 세포질내 도메인의 일부 또는 전부가 결여되도록 돌연변이되거나 돌연변이 되지 않을 수도 있다.
- [0073] [0070] 도 9는 TNF-알파의 일부 구조를 제시하고 있다. 도 9에 나타난 바와 같이, 세포질내 도메인은 MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFL (서열번호 17)를 포함한다. 카제인 키나제 I (CKI) 부위는 STES (서열번호 18)이다. 막횡단 도메인은 FSFLIVAGATTFLCLHFGVI (서열번호 19)이다. SPPL2b 절단 부위는 SL/LI이다.

링커는 GPQREEFPRDLSLISPLAQA (서열번호 20)를 포함한다. TACE 절단 부위는 VRSSSRTPSDKPV (서열번호 21)이다. P01375는 해당 단백질의 UniProt 번호를 가리킨다. 도 9의 서열은 TNF 단백질의 일부분만을 나타낸다.

[0074] [0071] 핵산 및 아미노산 각각에 있어 CKI 모티프 (밑줄친 돌연변이 서열)에 대한 TNF-알파 돌연변이의 구체적인 예들은 다음과 같다:

[0075] [0072]

[0076] atgagcactgaaaTGCATCCCGGAAGGGGGTCCTGGCACgaggaggcgctccccaagaagacagggggggccccagggctccaggcggtgcttgttctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacacctctctaatcagccctctggcccaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcccggccaatgccctctggccaatggcggtggagctgagagataaaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtctcttcaaggccaaggtgccccccacccatgtgctcctcaccacacccatcagccgcctcgccgtctcctaccagaccaaggtcaacctcctctctgccatcaagagcccctgccagaggagaccccagaggggctgagggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgccctgctg (서열번호 22)

[0077] [0073]

[0078] MSTEMHPGRGSWHEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQA VRSSSRTPSDKPVAHVVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGQCPSTHVLLTHTISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGI IAL (서열번호 23)

[0079] [0074] 핵산 및 아미노산 각각에 있어 세포질내 서열의 M-71K에서 돌연변이 및 Y87H (밑줄친 돌연변이 서열)에서 또 다른 돌연변이를 갖는 TNF-알파 돌연변이의 한 예는 다음과 같다:

[0080] [0075]

[0081] atgagcactgaaagcaAgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacagggggggccccagggctccaggcggtgcttgttctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacacctctctaatcagccctctggcccaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcccggccaatgccctctggccaatggcggtggagctgagagataaaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtctcttcaaggccaaggtgccccccacccatgtgctcctcaccacacccatcagccgcctcgccgtctccAccagaccaaggtcaacctcctctctgccatcaagagcccctgccagaggagaccccagaggggctgagggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgccctgctg (서열번호 24)

[0082] [0076]

[0083] MSTESKIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQA AHVVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGQCPSTHVLLTHTISRIVSHQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGI IAL (서열번호 25)

[0084] [0077] 핵산 및 아미노산 각각에 있어 S95F 및 C-28F (밑줄친 돌연변이 서열)에서 돌연변이를 갖는 TNF-알파 돌연변이의 한 예는 다음과 같다:

[0085] [0078]

[0086] atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacagggggggccccagggctccaggcggtgcttgttctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctTcctgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacacctctctaatcagccctctggcccaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcccggccaatgccctctggccaatggcggtggagctgagagataaaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtctcttcaaggccaaggtgccccccacccatgtgctcctcaccacacccatcagccgcctcgccgtctcctaccagaccaaggtcaacctcctctTCgcatcaagagcccctgccagaggagaccccagaggggctgagggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgccctgctg (서열번호 26)

[0087] [0079]

[0088] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATTLFELLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQA AHVVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGQCPSTHVLLTHTISRIVSYQTKVNLLFAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDY

LDFAESGQVYFGI IAL (서열번호 27)

[0089] [0080] 핵산 및 아미노산 각각에 있어 S133I 및 S147Y (밑줄친 돌연변이 서열)에서 돌연변이를 갖는 TNF-알파 돌연변이의 한 예는 다음과 같다:

[0090] [0081]

[0091] atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacaggggggccccagggtccaggcggtgcttggtcctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcctgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacgtctctctaatcagccctctggcccaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgccgggccaatgccctcctggccaatggcgtggagctgagagataaaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtcctcttcaaggccaaggctgccctccaccatgtgctcctcaccacaccatcagccgcctgccgtctcctaccagaccaaggtcaacctcctcttgccatcaagagcccctgccagaggagaccccagaggggctgaggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggtcttcagctggagaagggtgaccgactcaTcgctgagatcaatcgccccgactatctcgactttgccgagtAtgggcaggtctactttgggatcattgccctgtcg (서열번호 28)

[0092] [0082]

[0093] MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAHHVVPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFGQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAIAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLIAEINRPDYLDFAEYGVYFGI IAL (서열번호 29)

[0094] [0083] 핵산 및 아미노산 각각에 있어 Asp143Tyr에서 돌연변이 및 -1번 위치에서 Ala의 결실 (밑줄친 돌연변이된 서열 및 취소선으로 나타낸 결실된 서열)을 갖는 TNF-알파 돌연변이의 한 예는 다음과 같다:

[0095] [0084]

atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacaggggggccccagggtccaggcggtgcttggtcctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgccgtgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacgtctctctaatcagccctctggeecaggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgccgggccaatgccctcctggccaatggcgtggagctgagagataaaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtcctcttcaaggccaaggctgccctccaccatgtgctcctcaccacaccatcagccgcctgccgtctcctaccagaccaggtcaacctcctctctgccatcaagagcccctgccagaggagaccccagagggggctgaggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggtcttcagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatctcTactttgccgagtctgggcaggtctactttgggatcattgccctgtcg (서열번호 30)

[0096]

[0097] [0085]

MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAHHVVPQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFGQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAIAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLYFAESGQVYFGI IAL (서열번호 31)

[0098]

[0099] [0086] 결실된 서열들이 결여된 서열번호 30 및 서열번호 31의 버전은 각각 하기와 같다 (돌연변이된 서열은 동

일하게 밀줄친 부분).

[0087]

atgagcactgaaagcatgatccgggacgtggagctggccgaggaggcgctccccaagaagacaggggggccc
ccagggtccaggcggtgcttgttctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctgcc
tgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtccccaggacctctctctaatacagccctctgcaggca
gccccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcccgggccaatgccctcctggccaa
tggcgtggagctgagagataaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtcctcttca
aggccaaggctgccctccacccatgtgctcctcaccacacccatcagccgcatcgccgtctcctaccagaccaag
gtcaacctcctctctgccatcaagagccccctgccagaggagaccccagagggggctgaggccaagccctggtatga
gccccatctatctgggaggggtcttccagctggagaagggtgaccgactcagcgctgagatcaatcgccccgactatc
tctTactttgccgagctctgggcaggtctactttgggatcattgccctgtcg (서열번호 32)

[0088]

MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATTFLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANG
VELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGQGPCSTHVLLTHTISRIVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYL
YFAESGQVYFGI IAL (서열번호 33)

[0089] CIK 모티프 돌연변이와 상기 언급된 돌연변이들의 조합을 함유하는 TNF-알파 돌연변이의 한 예는 다음과 같으며, 돌연변이는 밀줄친 부분이다:

[0090]

ATGCTCGAGtcgagatgagcactgaaaTGCATCCCGGAAGGGGGTCCTGGCACgaggaggcgctccccaagaagacagggggggcccagggtccaggcggt
gcttgttctcagcctcttctccttctgatcgtggcaggcgccaccacgctcttctTcctgctgcactttggagtgatcgccccccagagggaagagtcc
ccaggacctctctctaatacagccctctggcagcccatgtttagcaaacctcaagctgaggggcagctccagtggctgaaccgcccgggccaatgccctcc
tggccaatggcgtggagctgagagataaccagctggtggtgccatcagagggcctgtacctcatctactcccaggtcctcttcaaggccaaggtgccctcc
ccacccatgtgctcctcaccacacccatcagccgcatcgccgtctccCaccagaccaaggtcaacctcctctTCgcatcaagagccccctgccagagggaga
ccccagagggggctgaggccaagccctggtatgagcccatctatctgggaggggtcttccagctggagaagggtgaccgactcaTcgctgagatcaatcggc
ccgactatctcTactttgccgagTatgggcaggtctactttgggatcattgccctgtcg (서열번호 34)

[0091]

MSTEMHPGRGSWHEALPKKTGGPQGSRRCLFSLFSFLIVAGATTFLHFGVIGPQREEFPRDLSLIS
PLAQAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGQGPCSTHVLLTHTISRIVS
HQTKNLLFAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGDRLIAEINRPDYLFAEYGGVYFGI IAL (서열
번호 35)

III. [0092] 치료 유전자(들)

[0093] 경우에 따라서는, TNF-알파 돌연변이(들)를 발현하는 세포들은 하나 이상의 치료 유전자를 발현할 수도 있다. 하나 이상의 치료 유전자가 사용되는 경우, 해당 치료 유전자는 동일한 유형의 분자일 수도 있고 아닐

수도 있다. 예를 들어, TNF-알파 돌연변이 이외에도, 단일 세포는 유전자 조작된 수용체, 사이토카인, 사이토카인 수용체, 호밍 수용체, 케모카인 수용체 또는 이들의 조합을 발현할 수도 있다. 여기에는 치료 유전자 핵산, 폴리펩타이드를 비롯한 치료 유전자 산물; 치료 유전자 핵산을 포함하는 벡터; 및 상기 임의의 것을 함유하는 세포가 포함된다.

[0111] [0094] 특정 실시양태에서, 돌연변이는 치료용 이식유전자를 포함하는 적어도 하나의 치료 유전자와 함께 공동 발현된다. 상기 치료용 이식유전자는 임의의 종류일 수 있지만, 특정 실시양태에서 이는 유전자 조작된 수용체를 코딩한다. 유전자 조작된 수용체의 예로는 적어도 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 (CAR), 케모카인 수용체, 사이토카인 수용체, 호밍 수용체 또는 이들의 조합을 포함한다. 유전자 조작된 임의의 수용체는 임의의 특정 리간드, 예컨대 암 항원 (예컨대, 종양 항원)을 비롯한 항원을 표적으로 할 수 있다. 상기 암 항원은 치료할 특정 암과 관련된 것을 포함하는, 해당 암에 대한 구체적인 제거를 위해 표적으로 삼는 것이 바람직한 임의의 종류일 수 있다.

[0112] [0095] 치료용 유전자 산물이 유전자 조작된 수용체인 경우, 해당 수용체는 종양 항원과 같은 임의의 항원을 표적으로 할 수 있는 항원 결합 도메인을 포함한다. 항원 결합 도메인은, 예를 들어 scFv를 포함할 수 있다. 항원성 분자는, 예를 들어 감염원, 자가/자기 항원, 종양/암 관련 항원 또는 종양 신항원에서 유래할 수 있다. 표적으로 삼을 수 있는 항원의 예로는, 이에 제한되지는 않지만, B 세포에서 발현되는 항원들; 암종, 육종, 림프종, 백혈병, 생식 세포종 및 모세포종에서 발현되는 항원들; 다양한 면역 세포에서 발현되는 항원들; 및 다양한 혈액 질환, 자가 면역질환 및/또는 염증성 질환과 관련된 세포들에서 발현되는 항원들을 포함한다. 표적으로 삼을 구체적인 항원의 예로는 CD19, CD5, CD99, CD33, CLL1, CD123, 4-1BB, 5T4, 선암종 항원, 알파-태아단백질, BAFF, B 림프종 세포, C242 항원, CA-125, 탄산 무수화효소 9 (CA-IX), C-MET, CCR4, CD152, CD20, CD200, CD22, CD221, CD23 (IgE 수용체), CD28, CD30 (TNFRSF8), CD33, CD4, CD40, CD44 v6, CD51, CD52, CD56, CD74, CD80, CEA, CNTO888, CTLA-4, DRS, EGFR, EpCAM, CD3, FAP, 피브로넥틴 추가 도메인 B, 엽산 수용체 1, GD2, GD3 갭글리오사이드, 당단백질 75, GPNMB, HER2/neu, HGF, 인간 산란 인자 수용체 키나제, IGF-1 수용체, IGF-I, IgG1, L1-CAM, IL-13, IL-6, 인슐린 유사 성장 인자 I 수용체, 인테그린- $\alpha 5\beta 1$, 인테그린- $\alpha v\beta 3$, MORAb-009, MS4A1, MUC1, 뮤신 CanAg, N-글리코릴뉴라민 산, NPC-1C, PDGF-R.알파, PDL192, 포스파티딜세린, 전립선 암종 세포, RANKL, RON, ROR1, SCH 900105, SDC1, SLAMF7, TAG-72, 테나신 C, TGF $\beta 2$, TGF- β , TRAIL-R1, TRAIL-R2, 종양 항원 CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR-1, VEGFR2, 비멘틴 및 이들의 조합을 포함한다. 본 발명의 방법 및 조성물에서 이용될 수 있는 임의의 항원 수용체는 상기 언급한 항원들 중 임의의 한 항원 또는 하나 이상의 다른 항원을 표적으로 삼을 수 있으며, 이러한 항원 수용체는 CAR 또는 TCR일 수 있다. 동일한 치료용 세포들은 특정 실시양태에서 CAR과 TCR를 모두 이용할 수 있다.

[0113] [0096] 치료용 유전자가 CAR을 코딩하는 경우, 상기 CAR은 예를 들어 1세대, 2세대, 또는 3세대 또는 후속 세대일 수 있다. CAR은 2 이상의 서로 다른 항원에 대하여 이중특이적이거나 그렇지 않을 수도 있다. CAR은 하나 이상의 보조 자극 도메인을 포함할 수 있다. 각각의 보조 자극 도메인은, 예를 들어 TNFR 상과의 구성원, CD28, CD137 (4-1BB), CD134 (OX40), Dap10, DAP12, CD27, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), Lck, TNFR-I, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 또는 이들의 조합 중 하나 이상의 임의의 공동 자극 도메인을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, CAR은 CD3 제타를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 특정 보조 자극 도메인이 결합되어 있는데; 예를 들어, CAR은 4-1BB가 부족할 수 있다.

[0114] [0097] 특정 실시양태에서, CAR은 보조 자극 도메인으로 적어도 DAP12를 포함하고, 특정 양태에서 CAR 폴리펩타이드는 특정 DAP12 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 특정 DAP12 핵산 서열에 의해 코딩된다. 그 예들은 아래와 같다:

[0115] [0098] DAP12 아미노산 서열

[0116] [0099]

[0117] MGGLPECSRLLLLPLLLAVSGLRPVQAQASDCSCSTVSPGVLGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAEEAATRKQRI TETESPYQELQGQRSDVY
SDLNTQRPYYK (서열번호 9)

[0118] [0100] DAP12 핵산 서열

[0119] [0101]

[0120] ATGGGGGGACTTGAACCTGCAGCAGGCTCCTGCTCCTGCTCCTGCTGCTGTAAGTGGTCTCCGCTCCTGTCAGGCCAGGCCAGAGCGATTGCAGT
TGCTCTACGGTGAGCCCGGGCGTGCTGGCAGGGATCGTGATGGGAGACCTGGTGCTGACAGTGCTCATTGCCCTGGCCGTGTACTTCTGGGCCGGCTGGTC

CCTCGGGGGCGAGGGGCTGCGGAGGCAGCGACCCGAAACAGCGTATCTACTGAGACCGAGTCGCCTTATCAGGAGCTCCAGGGTCAGAGGTCGGATGTCTAC
AGCGACCTCAACACACAGAGGCCGTATTACAAATGA (서열번호 10)

[0121] [0102] 특정 실시양태에서, CAR은 보조 자극 도메인으로서 적어도 CD28을 포함하고, 특정 양태에서 CAR 폴리펩타이드는 특정 CD28 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 특정 CD28 핵산 서열에 의해 코딩된다. 그 예들은 하기와 같다:

[0122] [0103] CD28 아미노산 서열

[0123] [0104]

[0124] KFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFLIFWVRSKRSLHSDYMNMTPRPGPTRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGNQLYNELNLGRREEYD
VLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRG (서열번호 11)

[0125] [0105] CD28 핵산 서열

[0126] [0106]

[0127] ATTTTGGGTGCTGGTGGTGGTGGTGGAGTCCTGGCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTATTATTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGGAGCAGGCT
CCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCGCCGCCCGGGCCACCCGCAAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCCGCGACTTCGCAGCCTATCGCTC
ACGCG (서열번호 12)

[0128] [0107] 특정 실시양태에서, CAR 폴리펩타이드는 항원 결합 도메인과 막횡단 도메인을 연결하는 세포의 스페이스 도메인을 포함한다. 세포의 스페이스 도메인은, 이에 제한되지는 않지만, 항체의 Fc 단편 또는 이의 단편 또는 유도체, 항체의 경첩 영역 또는 이의 단편 또는 유도체, 항체의 CH2 영역, 항체의 CH3 영역 항체, 인공 스페이스 서열 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 세포의 스페이스 도메인의 예로는, 이에 제한되지는 않지만, CD8-알파와 경첩, Gly3와 같은 폴리펩타이드로 제조된 인공 스페이스, 또는 IgG (예컨대, 인간 IgG1 또는 IgG4)의 CH1, CH3 도메인을 포함한다. 구체적인 경우에 있어서, 세포의 스페이스 도메인은 (i) IgG4의 경첩, CH2 및 CH3 영역, (ii) IgG4의 경첩 영역, (iii) IgG4의 경첩 및 CH2, (iv) CD8-알파의 경첩 영역, (v) IgG1의 경첩, CH2 및 CH3 영역, (vi) IgG1의 경첩 영역 또는 (vi) IgG1의 경첩 및 CH2 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.

[0129] [0108] 특정 실시양태에서, 상기 경첩은 IgG1에서 유래하고, 특정 양태에서 CAR 폴리펩타이드는 특정 IgG1 경첩 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 특정 IgG1 경첩 핵산 서열에 의해 코딩된다. 그 예들은 하기와 같다:

[0130] [0109] IgG1 경첩 아미노산 서열

[0131] [0110]

[0132] SYVTVSSQDPAEPKSPDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKDPK (서열번호 13)

[0133] [0111] IgG1 경첩 핵산 서열

[0134] [0112]

[0135] GTACGTCACGTCTCTTTCACAGGATCCCGCCGAGCCCAAATCTCTGACAAAACACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGACCGTC
AGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCATGATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCTGAGGT
CAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCAC
CGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCTCTCCAAAGCCAAAGG
GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAG
CGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAACCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCTCTTCTCTACAGCAA
GCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCT
GTCTCCGGGTAAAAAAGATC (서열번호 14)

[0136] IV. [0113] 벡터

[0137] [0114] TNF-알파 돌연변이(들)은 바이러스 벡터 또는 비바이러스성 벡터를 비롯한 임의의 적절한 벡터에 의해 수용 대상체 세포로 전달될 수 있다. 바이러스 벡터의 예로는 적어도 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 또는 아데노관련 바이러스 벡터를 포함한다. 비바이러스성 벡터의 예에는 적어도 플라스미드, 트랜스

포존, 지질, 나노입자 등이 포함된다.

[0138] [0115] 해당 세포가 TNF-알파 돌연변이를 코딩하는 벡터로 형질도입되고 치료용 유전자 산물과 같은 다른 유전자의 해당 세포로의 형질도입도 필요한 경우, 상기 TNF-알파 돌연변이 유전자와 치료용 유전자는 동일한 벡터에 상에 또는 동일한 벡터와 함께 포함되거나 포함되지 않을 수 있다. 경우에 따라서는, TNF-알파 돌연변이 유전자와 치료 유전자는 동일한 벡터 분자, 예컨대 동일한 바이러스 벡터 분자에서 발현된다. 이러한 경우, TNF-알파 돌연변이 유전자 및 치료 유전자의 발현은 동일한 조절 요소(들)에 의해 조절되거나 조절되지 않을 수도 있다. 상기 TNF-알파 돌연변이 유전자와 치료 유전자가 동일한 벡터 상에 존재하는 경우, 이들은 개별 폴리펩타이드로서 발현되거나 발현되지 않을 수도 있다. 이들이 개별 폴리펩타이드로 발현되는 경우, 이들은 예를 들어 2A 요소 또는 IRES 요소에 의해 벡터 상에서 분리될 수도 있다. 일부 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이 및 치료용 유전자 생성물은 융합 단백질로서 제조된다.

[0139] [0116] 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이 유전자는 멀티시스트론성(multicistronic) 벡터로부터 발현된다. 상기 멀티시스트론성 벡터는 TNF-알파 돌연변이 유전자 이외에 적어도 하나의 치료 유전자를 코딩할 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 멀티시스트론성 벡터는 TNF-알파 돌연변이 및 적어도 하나의 유전자 조작된 수용체, 예컨대 T 세포 수용체 및/또는 CAR을 코딩한다. 경우에 따라서는, 상기 멀티시스트론성 벡터는 적어도 하나의 TNF-알파 돌연변이, 적어도 하나의 유전자 조작된 수용체 및 적어도 하나의 사이토카인을 코딩한다. 사이토카인은 인간 또는 마우스와 같은 특정 유형의 사이토카인 또는 임의의 종의 사이토카인일 수 있다. 구체적인 경우로서, 사이토카인은 인터루킨 (IL) 15, IL12, IL2, IL18 및/또는 IL21이다.

[0140] [0117] TNF-알파 돌연변이 del Val1 del Pro12를 코딩하고, IgG1 경첩, CD28 및 CD3제타를 갖는 CD19 특이적 CAR을 개별적으로 코딩하며, IL15를 개별적으로 코딩하는 벡터에 대한 핵산 서열의 한 예는 다음과 같다:

[0141] [0118]

[0142] AATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGCAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGAAGGCATGAAAAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTCAGATCAAG
GTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATA
TGGGCCAAACAGGATATCTGTGGTAAGCAGTTCCTGCCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGTGCCCAAGGACCTGAAATGACCTGTGCCTTATTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTATGC
TCCCCGAGCTCAATAAAGAGGCCACACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCTCCGATTGACTGAGTCGCCCGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCCTCTTGC
AGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCTTGGGAGGGTCTCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGTCTTTCATTTGGGGGTCTGTCGGGAT
CGGGAGACCCCTGCCAGGGACCCAGCCACCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGACTGATTTT
ATGCGCTGCGTCCGTACTAGTTAGCTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGAAGTACGAGTTCGGAACACCCGCGCCCAACCTGGGAGACGT
CCCAGGGACTTCGGGGGCGCTTTTGTGGCCGACCTGAGTCTAAAATCCCGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGCACCCCCCTTAGAGGAGGGATATGTGGT
TCTGTAGGAGACGAGAACCTAAACAGTTCGCCCTCCGTCTGAATTTTGTCTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCGCGCTTGTCTGTCTGCAGCAT
CGTTCTGTGTGTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGTAGCTGTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTCACTG
GAAAGATGTGAGCGGATCGCTCACAACAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTGGGTACCTTCTGCTCTGCAGAAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATG
GCCGCGAGACGGCACCTTAACCGAGACCTATCACCCAGGTTAAGATCAAGGTCTTTTACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACAGGTGGGGTACATCGT
GACCTGGGAAGCCTTGGCTTTTACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTGTACACCTAAGCCTCCGCTCTCTTCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCCT
TGAACCTCTCGTTCGACCCGCTCGATCTCCCTTTATCCAGCCCTCACTCTCTTCTAGGCGCCCCATATGGCCATATGAGATCTTATATGGGGACCC
CCGCCCCCTTGTAACCTTCCCTGACCTGACATGACAAGAGTTACTAACAGCCCCCTCTCTCAAGCTCACTTACAGGCTCTCTACTTAGTCCAGCAGCAAGT
CTGGAGACCTCTGGCGGACGCTACCAAGAACAACCTGGACCGACCGGTGGTACCTCACCCCTTACCGAGTCGGCGACACAGTGTGGGTCCGCGGACACAGAC
TAAGAACCTAGAACCTCGCTGGAAGGACCTTACACAGTCTGTGACCACCCACCGCCCTCAAAGTAGACGGCATCGCAGCTTGGATACACGCGCCCA
CGTGAAGGCTGCGGACCCCGGGGTGGACATCCTCTAGACTGCCATGCTCGAGATGAGCACTGAAAGCATGATCCGGGACGTGGAGCTGGCCGAGGAGCG
CTCCCCAAGAAGACAGGGGGGCCCCAGGGCTCCAGGCGGTGCTTGTTCCTCAGCCTCTTCTCTCTCTGATCGTGGCAGGCGCCACCAGCTCTTCTGCCTG
CTGCACTTTGGAGTGATCGGCCCCAGAGGAAGAGTTCCTCCAGGACCTCTCTTAATCAGCCCTCTGGCCAGGCAAGATCATCTTCTGAACCCCGAGT
GACAAGGTAGCCCATGTTGTAGCAAAACCTCAAGCTGAGGGGACGTCCAGTGGCTGAACCGCCGGGCCAATGCCCTCTGGCCAATGGCGTGGAGCTGAGA
GATAACAGCTGGTGGTGCCATCAGAGGGCCTGTACCTCATCTACTCCAGGTCTCTTCAAGGGCCAAGGCTGCCCTCCACCCATGTGCTCTCACCAC
ACCATCAGCCGATCGCGCTCTCTACCAGACCAAGGTCAACCTCTCTCTGCCATCAAGAGCCCTGCCAGAGGGAGACCCAGAGGGGGCTGAGGCCAAG
CCCTGGTATGAGCCATCTATCTGGGAGGGGTCTTCCAGCTGGAGAAGGGTGACCGACTCAGCGCTGAGATCAATCGGCCCGACTATCTCGACTTTGCCGAG
TCTGGGCAGGTCTACTTTGGGATCATTTGCCCTGTGCGGAGCCGAGGGGAGGGGAAGTCTTCTAACATGCGGGGACGTGGAGGAAAAATCCCGGGCCCATGGAG
TTTGGGCTGAGCTGGCTTTTCTGTGGCTATTTTAAAGGTGTCCAGTGTCTAGAGACATCCAGATGACACAGACTACATCTCCCTGTCTGCCTCTCTG
GGAGACAGAGTACCATCAGTTGAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTTGGTATCAGCAGAAACAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTAC
CATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCAAGGTTAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATT

[illegible]

CTGAGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAAGTGTGACACCAAGTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAACTTCATTTTAAATTTAAAGGA
TCTAGGTGAAGATCCTTTTGTATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTT
CTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAACAAAAAACACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTT
TTCCGAAGGTAAGTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCAGCCTA
CATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCTGTCTTACCAGGTGGACTCAAGACGATAGTTACCAGGATAAGGCGC
AGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGCAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCA
CGCTTCCGAAGGGAGAAAGCGGACAGGTATCCGTAAGCGGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGGAAACGCTGGTATCTTT
ATAGTCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCTTTT
TACGGTTCTGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTACATGTTCTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATA
CCGCTCGCCGAGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACGCTCTCCCCGCGCTTGGCCGATTTC
ATTAATGCAGCTGGCAGCAGAGGTTTCCCGACTGGAAGCGGCGAGTGAGCGCAACCAATTAATGTGAGTTAGCTACTCATTAGGCACCCAGGCTTTAC
ACTTTATGCTTCCGCTCGTATGTTGTGTGAATTGTGAGCGGATAACAATTCACACAGAAACAGCTATGACCATGATTAGCCAAAGCTTTGTCTTAGG
AGTTTCTAATACATCCAACTCAAATATATAAGCATTTGACTTGTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTAAATTTAAAA
TGTTAATTCATTTTAAATGCACAGATGTTTTATTTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCTGTACCAAAGCTAGTATAAATAAAAA
TAGATAAACGTGGAATTAAGTATGAGTTTCTGTCTAATACGTTTCTTCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAAGCCAGTTTGCATCTGTACAGG
ATCAATTTCCATTATGCCAGTCATATTAATTAAGTCAATTAAGTTGATTTTATTTTGTGACATATACATGTG (서열번호 15)

[0143] [0119] TNF-알파 돌연변이 del Val1 del Pro12를 코딩하고, IgG1 경첩, CD28 및 CD3제타를 갖는 CD19 특이적 CAR을 개별적으로 코딩하며, IL15를 개별적으로 코딩하는 벡터에 대한 아미노산 서열의 한 예는 다음과 같다:

[0144] [0120]

[0145] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSLIVAGATTLFLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQARSSSRTPSDKVAHVVANPQAEGLQW
LNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKGQGPSTHVLTHTSRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEKWPYEP IYLGGVFQLEKGD
RLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGI IALSRAEGRSLLTCGDVEENPGPMEFLSWLFLVA ILKGVQCSRD IQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDI SKYL
NWXQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNLTPYTFGGGKLELKRGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLQQS
GPGLVAPSQLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKLEWLGV IWSSETTYNSALKSRLTI IKDNSKSQVFLKMNLSQTDITA IYCAKHYHYGGSYAMDY
WGQGTVTVSSYVTSSQDPAEPKSPDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
DSDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCFVSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFI FVWVRKSRSLHSDYMNMTPRRPGP
TRKHYPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREYDVLDRKRRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSE IGMGERRRG
KGHDGLYQGLSTATKDYDALHMQALPPRGPQCTNYALLKLADVESNPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVF ILGCF SAGLPKTEANWV
NVIDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQV ILES GDASIHDTVENLI ILANNLSNNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFVH
IVQMFINTS (서열번호 36)

[0146] [0121] TNF-알파 돌연변이 del Val1 del Pro12를 코딩하고, IgG1 경첩, DAP12 및 CD3제타를 갖는 CD19 특이적 CAR을 개별적으로 코딩하며, IL15를 개별적으로 코딩하는 벡터에 대한 핵산 서열의 한 예는 다음과 같다:

[0147] [0122]

[0148] AATGAAAGACCCACCTGTAGGTTTGGAAGCTAGCTTAAGTAACGCCATTTTGAAGGCATGAAAAATACATAACTGAGAATAGAAAAGTTGAGATCAAG
GTCAGGAACAGATGGAACAGCTGAATATGGGCCAACAGGATATCTGTGTAAGCAGTTCCTGCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGAACAGCTGAATA
TGGGCCAACAGGATATCTGTGTAAGCAGTTCCTGCCCGGCTCAGGGCCAAGAACAGATGGTCCCAGATGCGGTCCAGCCCTCAGCAGTTTCTAGAGAA
CCATCAGATGTTTCCAGGTGCCCCAAGGACCTGAAATGACCTGTGCCTTATTTGAACTAACCAATCAGTTCGCTTCTCGCTTCTGTTTCGCGCGCTTATGC
TCCCCGAGCTCAATAAAGAGCCACAAACCCCTCACTCGGGGCGCCAGTCTCCGATTGACTGAGTCGCCCGGTACCCGTGTATCCAATAAACCCCTCTTGC
AGTTGCATCCGACTTGTGGTCTCGCTGTTCTTGGGAGGTCTCTCTGAGTGATTGACTACCCGTCAGCGGGGTCTTTCATTTGGGGGCTCGTCCGGGAT
CGGGAGACCCCTGCCAGGGACACCGACCCACCGGGAGGTAAGCTGGCCAGCAACTTATCTGTGTCTGTCCGATTGTCTAGTGTCTATGACTGATTTT
ATGCGCTGCGTCTGCTAGTTAGTAACTAGCTCTGTATCTGGCGGACCCGTGGTGAAGTACGAGTTCGGAACACCCGCGCCAAACCTGGGAGACGT
CCCAGGGACTTCGGGGGCGCTTTTGTGGCCGACCTGAGTCTAAATCCCGATCGTTTAGGACTCTTTGGTGACCCCCCTTAGAGAGGGATATGTGGT
TCTGTAGGAGACGAGAACCTAAACAGTTCGCCCTCCGTCTGAATTTTGTCTTCGGTTTGGGACCGAAGCCGCGCGCGCTTGTCTGTGTCAGCAT
CGTTCTGTGTGTCTGTCTGACTGTGTTTCTGTATTTGTCTGAAAATATGGGCCCGGCTAGCCTGTTACCACTCCCTTAAGTTTGACCTTAGGTCACTG
GAAAGATGTGAGCGGATCGCTACAACAGTCGGTAGATGTCAAGAAGAGACGTTGGGTTACCTTCTGCTCTGCAGAATGGCCAACCTTTAACGTCGGATG
GCCGCGAGACGGCACCTTAACCGAGACCTCATCACCCAGGTTAAGATCAAGGTCTTTTACCTGGCCCGCATGGACACCCAGACAGGTGGGGTACATCGT
GACCTGGGAAGCCTTGGCTTTTGACCCCCCTCCCTGGGTCAAGCCCTTGTACACCTAAGCCTCCGCTCTCTTCTCCATCCGCCCCGTCTCTCCCCCT

[illegible]

ACCGCATATGGTGCACCTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCGCATAGTTAAGCCAGCCCCGACACCCGCCAACACCCGCTGACGCGCCCTGACGGGCTTGTC
TGCTCCCGGCATCCGCTTACAGACAAGCTGTGACCGTCTCCGGGAGCTGCATGTGTGAGAGGTTTTCACCGTCATACCGAAACGCGCGAGACGAAAGGGCC
TCGTGATACGCCTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAAATAGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTT
TATTTTTCTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATT
TCCGTGTGCGCCCTTATCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCCTTCCTGTTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGTGAAGATCAGTTGGGTG
CACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTGCGCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGC
TATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACCGCGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCAGTCACAG
AAAAGCATCTTACGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAG
GACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGC
GTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACCTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGG
AGGCGGATAAAGTTGACGAGCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCA
TTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGA
TAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACGTGACACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGATTTAAACTTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGG
TGAAGATCCTTTTTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCTGTCCACTGAGCGTCAGACCCGTAGAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAG
ATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAACAAAAAACACCGCTACACGCGGTGGTTGTTTGGCGGATCAAGAGCTACCAACTCTTTTTCCGA
AGGTAACCTGGCTTACGACGAGCGCAGATACCAATACTGTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACC
TCGCTCTGCTAATCCTGTTACAGTGCTGCTGCCAGTGCGGATAAGTCGTGCTTACCAGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGT
CGGGCTGAACGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTC
CCGAAGGGAGAAAGGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGAGCTTCCAGGGGAAACGCGCTGGTATCTTTATAGTC
CTGTGCGGTTTCCGACCTCTGACTTGAGCGTCGATTTTTGTGATGCTGCTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCGGCCTTTTACGGT
TCCTGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTGCATGTTCTTCTGCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTC
GCCGACCGGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCGCCCAATACGCAAACCGCCTCTCCCGCGCGTTGGCCGATTCATTAAT
GCAGCTGGCAGCAGAGTTTCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTTACTTTA
TGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACGCCAAGCTTTGCTCTTAGGAGTTTC
CTAATACATCCAACTCAAATATATAAAGCATTGACTTGTCTATGCCCTAGGGGGCGGGGGAAGCTAAGCCAGCTTTTTTAACATTTAAATGTTAA
TTCCATTTTAAATGCACAGATGTTTTTATTCATAAGGGTTTCAATGTGCATGAATGCTGCAATATTCCTGTTACCAAAGCTAGTATAAATAAAATAGATA
AACGTGGAATTACTTAGAGTTTCTGTCAATTAACGTTTCTTCTCAGTTGACAACATAAATGCGCTGCTGAGCAAGCCAGTTTGCATCTGTCAGGATCAAT
TTCCATTATGCCAGTCATTAATTAAGTACTAGTCAATTAGTTGATTTTTATTTTGACATATACATGTG (서열번호 16).

[0149] [0123] TNF-알파 돌연변이 del Val1 del Pro12를 코딩하고, IgG1 경첩, DAP12 및 CD3제타를 갖는 CD19 특이적 CAR을 개별적으로 코딩하며, IL15를 개별적으로 코딩하는 벡터에 대한 아미노산 서열의 한 예는 다음과 같다:

[0150] [0124]

[0151] MSTESMIRDVELAEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTLFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLSPLAQARSSSRTPSDKVAHVVANPQAEGLQW
LNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLYL IYSQVLFKQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEP IYLGGVFQLEKGD
RLSAEINRPDYLDFAESQVYFGI IALSRAEGRGSLTTCGDVEENPGPMEFGLSWLFLVA I LKGVQCSRDIQMTQTSSLSASLGDRVT I SCRASQDI SKYL
NWXQKPDGTVKLL IYHTSRLHSGVPSRFSGSGSDYSLT I SNLEQEDIATYFCQGNLTLPYTFGGTKLELKRGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLQQS
GPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRGLEWLGVIWGSSETTYNSALKSRLTI IKDNSKSQVFLKMNLSLQTDITAIYCAKHYHYGGSYAMDY
WGQGTITVTVSSYVTVSSQDPAEPKSPDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKKDPKFWGLAGIVMGDLVLTVLIALAVYFLGRLVPRGRGAEEAATRKQRI TET
ESPYQELQGQRSDVYSDLTNQRPYKRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGM
KGERRRGKHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPRGPPQCTNYALLKLAGDVESNPGPMRISKPHLRSISIQCYLCLLLNSHFLTEAGIHVFI LGCFSAGLP
KTEANWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQVLSLESGDASIHDTVENLI ILANNLSNGNVTESGCKECEELEEKNIKE
FLQSFVHIVQMFINTS (서열번호 37)

[0152] V. [0125] 세포

[0153] [0126] 본 발명의 실시양태는 본원에 포함된 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포를 포함한다. 특
정 실시양태에서, 세포는 하나 이상의 유전자 조작된 비분비성 막결합된 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코
딩하는 재조합 핵산을 포함한다. 특정 실시양태에서, 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 발현하는
것에 이외에도, 세포는 하나 이상의 치료 유전자 산물을 코딩하는 핵산도 포함한다. 상기 핵산은 임의의 종류
의 벡터일 수 있다. 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산은 하나 이상의 치료 유전자

산물을 코딩하는 동일한 핵산 분자일 수도 있고 아닐 수도 있다.

- [0154] [0127] 본 발명의 세포는 적어도 T 세포, NK 세포, NKT 세포, iNKT 세포, 대식세포, B 세포, MSC를 비롯한 임의의 종류의 것이거나, 또는 적어도 조혈 줄기 세포, 만능성 배아 줄기 세포 또는 배아 줄기 세포를 비롯한 임의의 종류의 줄기 세포일 수 있다.
- [0155] [0128] 세포는 대상체로부터 직접 수득하거나, 또는 기탁 기설 또는 기타 다른 보관 시설에서 얻을 수 있다. 요법으로서의 세포는 해당 세포가 요법으로서 제공되는 대상체에 대하여 자가유래성이거나 또는 동종이계성일 수 있다.
- [0156] [0129] 세포는 의학적 질환에 대한 치료가 필요한 대상체에서 유래할 수 있고, 이러한 세포들을 (예를 들어, 입양 세포 요법용 형질도입 및 확장을 위한 표준 기법을 사용하여) TNF-알파 돌연변이 및 치료 유전자 산물을 발현하도록 조작한 후, 이들이 본래 유래한 대상체에 다시 제공할 수 있다. 경우에 따라서는, 상기 세포들을 해당 대상체나 또 다른 대상체에 대해 차후 사용을 위해 보관할 수도 있다.
- [0157] [0130] 하나 이상의 유전자 조작된 수용체를 보유하며 상주 TNF-알파 자살 유전자에 의해 제거될 필요가 있을 수 있는 세포는 임의의 종류일 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포는 예를 들어 입양 세포 요법에 이용되는 세포들을 비롯한 면역 세포 또는 줄기 세포이다. 면역 세포는 T 세포, NK 세포, NKT 세포, iNKT 세포, B 세포 등일 수 있다. 세포는 세포군 중에 포함될 수 있으며, 해당 세포군은 대다수가 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이 자살 유전자 또는 하나 이상의 유전자 조작된 수용체와 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이 자살 유전자 양자 모두로 형질도입될 수 있다. 세포군은 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이 자살 유전자 및 선택적으로는 하나 이상의 유전자 조작된 수용체로 형질도입된 세포의 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 또는 100%를 차지할 수 있다. 상기 TNF-알파 돌연변이(들)과 유전자 조작된 수용체(들)은 별개의 폴리펩타이드들이다.
- [0158] [0131] 세포는 특정 목적과 관련하여 모토화시킬 의도로 TNF-알파 돌연변이 자살 유전자를 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 세포들은 상업적 유통을 위해, TNF-알파 돌연변이를 발현하도록 하는 것을 포함하여 제조될 수 있으며 (또는 후속 형질도입을 위해 해당 돌연변이를 코딩하는 핵산을 갖는 것으로 유통됨), 사용자라면 누구나 자신이 의도한 목적에 따라 이들을 관심대상인 하나 이상의 치료 유전자를 발현하도록 변형할 수 있다. 단 하나의 예로서, CD5 양성 암을 치료하는데 관심이 있는 대상체는 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포들을 얻거나 생성할 수 있고, 이들을 CD5 특이적 scFv를 포함하는 CAR을 발현하도록 변형시킬 수 있다. 다르게는, CD5 양성 암을 치료하는데 관심이 있는 대상체는 형질도입할 세포를 얻거나, TNF-알파 돌연변이를 코딩하는 벡터를 얻거나, 또는 CD5 특이적 CAR을 코팅하도록 상기 벡터도 변형시킬 수 있으며, 이후 상기 세포들을 후속적으로 형질도입할 수도 있다. 상기 실시양태들은 모두 CD5 이외의 다른 임의의 암항원에 사용될 수 있다.
- [0159] [0132] 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이를 발현하는 형질도입된 세포의 유전체는 변형될 수 있다. 상기 유전체는 임의의 방식으로 변형될 수 있지만, 특정 실시양태에서, 상기 유전체는 예를 들어 CRISPR 유전자 편집에 의해 변형된다. 세포의 유전체는 TNF-알파 돌연변이의 자살 유전자로서의 효과를 강화시키거나, 치료 유전자 산물의 사용 효과를 강화시키거나, 또는 또 다른 목적을 위해서 변형시킬 수도 있다. 세포 내에서 변형될 수 있는 유전자들의 구체적인 예들은 다음과 같다: ADAM13/TACE의 녹아웃, 종양의 미세적 환경, 예컨대 TGF-베타 수용체 1 또는 2, IDO, 체크포인트 분자들, 예컨대 PD1, TIGIT, KLRG1, TIM3 등에 대한 TNF-알파 돌연변이를 발현하는 세포들의 내성 증가.
- [0160] VI. [0133] TNF-알파 돌연변이의 자살 유전자로서의 용도
- [0161] [0134] 특정 실시양태에서, TNF-알파 돌연변이 자살 유전자가 사용되는 세포들은, 예를 들어 생체내 해당 세포들에 노출된 대상체에 유해할 가능성이 있는 세포들이다. 세포들은 전달시나 또는 전달 후에 대상체에게 독성을 줄 수 있기 때문에, 해당 세포를 지속적으로 제거할 필요가 있을 수 있다. 예를 들어, 대상체의 생체 내에서 사용하기 위한 임의 유형의 세포 요법은 해당 세포에서 개시된 TNF-알파 돌연변이를 사용할 수 있으며, 필요에 따라 해당 세포 요법을 종료할 수도 있다. 세포 요법을 받고 있고/받고 있거나 세포 요법을 받았던 대상체가 하나 이상의 이상 사례의 하나 이상의 증상, 예컨대 사이토카인 방출 증후군, 신경독성, 아나필락시스/알레르기, 및/또는 (예로서) 표적 정확/종양 독성 부정확 특성을 나타내거나 또는 하나 이상의 증상을 나타낼 위험이 있을 것 (위급한 경우 포함)으로 간주되는 경우, 해당 세포 요법은 TNF-알파 돌연변이 자살 유전자를 이용할 수 있다. TNF-알파 돌연변이의 자살 유전자로서의 사용은 치료에 계획된 프로토콜의 일부일 수 있거나, 또는

그러한 사용이 필요하다고 인지되는 경우에만 사용될 수 있다. 경우에 따라서는, 세포 요법은 더 이상 필요하지 않아서 TNF-알파와 자살 유전자를 표적으로 하는 억제제(들)를 사용하여 종료시킨다.

[0162] [0135] TNF-알파와 자살 유전자가 이용되는 세포는, 특정 실시양태에서 포유동물의 세포 요법을 위해 유전자 조작된 세포일 수 있다. 그러한 경우, 세포 요법은 임의의 종류일 수 있고, 해당 세포는 임의의 종류일 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포는 하나 이상의 치료 유전자 산물을 발현하도록 유전자 조작한 면역 세포 또는 줄기 세포이다. 특정 실시양태에서, 세포는 하나 이상의 유전자 조작된 수용체를 이용하여 형질도입된 세포이다. 상기 유전자 조작된 수용체는, 예컨대 해당 수용체에 대한 리간드에 결합시킴으로써 표적화시 해당 세포에 치료 특성을 부여할 수 있다. 특정 실시양태에서, 유전자 조작된 수용체는 천연 상태에서 유래된 것이 아닌 사람의 손에 의해 제조된다. 유전자 조작된 수용체는 T 세포 수용체, 키메라 항원 수용체 (CAR), 케모카인 수용체, 사이토카인 수용체, 호밍 수용체, 유전자 편집된 세포 또는 이들의 조합을 포함하는 임의의 종류일 수 있다. 유전자 조작된 수용체는, 예로서 적어도 종양 항원을 포함하는 특정 항원과 같은 표적에 결합할 수 있도록 유전자 조작될 수 있다. 유전자 조작된 수용체는 하나 이상의 항원에 대해 이중 특이적 또는 다중 특이적일 수 있어서, 경우에 따라서는, 형질도입된 세포들을 유전자 조작된 수용체를 통해 다수의 항원들을 발현하는 세포에 결합시킬 수 있다.

[0163] [0136] 특정 실시양태에서, TNF-알파와 돌연변이를 발현하는 세포들에 결합하는 하나 이상의 제제의 유효량 전달시, 대부분의 TNF-알파와 돌연변이 발현 세포들을 제거한다. 특정 실시양태에서, TNF-알파와 돌연변이를 발현하는 세포들의 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 초과분을 대상체에서 제거한다. 세포를 제거할 필요성을 인식한 후에는, 하나 이상의 증상이 더 이상 존재하지 않거나, 또는 충분한 수의 세포들이 제거될 때까지 해당 대상체에 대한 제제(들)의 전달을 지속할 수 있다. 해당 대상체의 세포수는 TNF-알파와 돌연변이를 마커로 사용하여 모니터링할 수 있다.

[0164] [0137] 본 발명의 방법의 실시양태는, 유효량의 세포 치료제를 이를 필요로 하는 대상체에게 제공하는 제1 단계(여기서, 상기 세포들은 하나 이상의 비분비성 TNF-알파와 돌연변이를 포함함); 및 자살 유전자로서 TNF-알파와 돌연변이(들)을 사용해(임의의 기전에 의한 세포 사멸을 통해 직접 또는 간접적으로) 상기 세포들을 제거하는 제2 단계를 포함할 수 있다. 제2 단계는 대상체에서 적어도 하나의 이상 사례가 개시될 때 수행될 수 있으며, 해당 이상 사례는 세포 요법의 개시때부터 지속되거나 지속되지 않을 수 있는 일상적인 모니터링을 비롯한 임의의 수단으로 인지할 수 있다. 상기 이상 사례(들)은 검사 및/또는 시험 시 감지될 수 있다. 해당 대상체가 사이토카인 방출 증후군(사이토카인 폭풍이라고도 함)이 있는 경우, 그 대상체는, 예를 들어, 증가된 염증성 사이토카인(들)(단지 예로서, 인터페론-감마, 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자, IL-10, IL-6 및 TNF-알파); 발열; 피로; 저혈압; 저산소증, 빈맥; 구역질; 모세혈관 누출; 심장/신장/간 기능장애; 또는 이들의 조합을 가질 수 있다. 해당 대상체가 신경독성을 갖는 경우, 그 대상체는 착란상태, 섬망, 무형성 및/또는 발작을 가질 수 있다. 경우에 따라서, 해당 대상체를 C 반응성 단백질, IL-6, TNF-알파 및/또는 페리틴과 같은 사이토카인 방출 증후군의 발병 및/또는 중증도와 관련된 마커에 대해 검사한다.

[0165] [0138] 추가의 실시양태에서, 예를 들어 사이토카인 방출 증후군 또는 신경독성 동안 비분비성 TNF- α 에 결합하는 하나 이상의 제제의 투여는 해당 요법의 독성의 원인이 되는 높은 수준의 가용성 TNF-알파를 중화시키는 추가의 이점이 있다. 가용성 TNF-알파는 사이토카인 방출 증후군 동안 높은 수준으로 방출되며 CAR T 세포 요법에서 독성의 매대상체이다. 이러한 경우, 본원에 포함된 TNF-알파 항체의 투여는 유익한 이중적인 효과를 나타내는데, 즉 TNF-알파와 돌연변이를 발현하는 세포의 선택적 결실 뿐만 아니라 독성을 유발하는 가용성 TNF-알파를 중화시킨다. 따라서, 본 발명의 실시양태는 입양 세포 요법(해당 세포들은 비분비성 TNF-알파와 돌연변이를 발현함)을 받고 있거나, 또는 받은 적이 있는 대상체에서 사이토카인 방출 증후군의 중증도를 없애거나 감소시키는 방법을 포함하는데, 상기 방법은 해당 대상체에서 (a) 세포 요법의 세포들 중 적어도 일부의 제거; 및 (b) 가용성 TNF-알파 수준의 감소를 유도하는, 비분비성 TNF-알파와 돌연변이에 결합하는 제제의 유효량을 제공하는 단계를 포함한다.

[0166] [0139] 본 발명의 실시양태는 비분비성 TNF-알파와 돌연변이를 발현하는 세포로 세포 요법을 받은 적이 있거나 받고 있는 대상체에서 사이토카인 방출 증후군의 영향을 감소시키는 방법을 포함하는데, 상기 방법은 상기 돌연변이와 결합하여 해당 대상체에서 (a) 세포 요법의 세포들 중 적어도 일부의 제거; 및 (b) 가용성 TNF-알파 수준의 감소를 유도하는 하나 이상의 제제의 유효량을 제공하는 단계를 포함한다.

[0167] [0140] TNF-알파와 자살 유전자를 이용해야 할 필요가 발생하면, TNF-알파와 돌연변이를 직접 세포 표면에 결합하는 것과 같이, 억제할 수 있는 하나 이상의 유효량의 억제제를 해당 대상체에 제공한다. 상기 억제제(들)은, 일부

실시양태에서, 해당 대상체에 전신적으로 및/또는 국소적으로 제공될 수 있다. 상기 억제제는 폴리펩타이드 (예컨대, 항체), 핵산, 저분자 (예컨대, 크산틴 유도체), 펩타이드 또는 이들의 조합일 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 FDA 승인을 받은 것이다. 상기 억제제가 항체인 경우, 해당 억제제는 적어도 일부의 경우에 단일클론 항체일 수 있다. 항체들의 혼합물이 사용되는 경우, 해당 혼합물 중 하나 이상의 항체는 단일클론 항체일 수 있다. 저분자 TNF-알파 억제제의 예로는 미국 특허 5,118,500호 (전문이 본원에 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같은 저분자들을 포함한다. 폴리펩타이드 TNF-알파 억제제의 예로는 미국 특허 6,143,866호 (전문이 본원에 참고로 포함됨)에 기재된 바와 같은 폴리펩타이드들을 포함한다.

[0168] [0141] 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 항체를 사용하여 자살 유전자로서의 활성을 유발하는 TNF-알파 돌연변이를 표적화한다. 항체들의 예로는, 예를 들어 적어도 아달리무맙, 아달리무맙-아토, 세르톨리주맙 페콜, 에타너셉트, 에타너셉트-szzs, 골리무맙, 인플릭시맙, 인플릭시맙-다이브 또는 이들의 혼합물을 포함한다.

[0169] [0142] 본 발명의 실시양태는 세포 요법의 세포들을 변형시켜 비분비성 TNF-알파 돌연변이를 발현함으로써, 대상체에 대한 세포 요법의 독성 위험을 감소시키는 방법을 포함한다. 세포 요법은, 특정 실시양태에서, 암에 대한 것이며, 암 항원을 비롯한 항원을 표적으로 하는 유전자 조작된 수용체를 포함할 수 있다.

[0170] [0143] 특정 실시양태에서, 본 발명의 세포 요법 이외에도, 대상체는 의학적 질환에 대한 추가의 요법을 제공받았던 적이 있거나, 제공받을 수 있고/있거나 제공받을 수 있을 것이다. 의학적 질환이 암인 경우, 해당 대상체는 수술, 방사선, (본 발명의 세포 요법이 아닌) 면역요법, 호르몬 요법, 유전자 요법, 화학요법 등 중 하나 이상을 제공받을 수 있다.

[0171] [0144] 본 발명의 세포 요법으로 치료받는 대상체가 암에 걸린 경우, 해당 대상체는 임의 유형의 암을 가질 수 있다. 해당 대상체는 백혈병, 림프종, 골수종, 뇌암, 폐암, 유방암, 결장암, 자궁내막암, 자궁경부암, 난소암, 고환암, 골암, 피부암, 신장암, 간암, 위암, 비장암, 갑상선암, 두경부암, 담낭암 등을 가질 수 있다.

[0172] VII. [0145] 본 발명의 키트

[0173] [0146] 본원에 기재된 임의의 조성물은 키트 중에 포함될 수 있다. 비제한적인 예로서, 세포, 세포를 제조하기 위한 시약, 백터 및 백터와 그의 성분을 제조하기 위한 시약들이 키트에 포함될 수 있다. 특정 실시양태에서, 알파-베타 T 세포, 감마-델타 T 세포, NK 세포, NKT 세포, iNKT 세포, B 세포 또는 줄기 세포가 키트에 포함될 수 있다. 이러한 키트에는 세포의 조작을 위한 하나 이상의 시약을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다. 이러한 시약에는, 예를 들어 저분자, 단백질, 핵산, 항체, 완충제, 프라이머, 뉴클레오타이드, 염 및/또는 이들의 조합이 포함된다. 하나 이상의 TNF-알파 돌연변이, 유전자 조작된 수용체 또는 사이토카인을 코딩하는 뉴클레오타이드도 키트에 포함될 수 있다. 단백질, 예컨대 사이토카인, 또는 단일클론 항체를 비롯한 항체들도 키트에 포함될 수 있다. 키메라 항원 수용체 또는 T 세포 수용체와 같이 유전자 조작된 수용체의 구성요소들을 코딩하는 뉴클레오타이드도 이들을 생성하는 시약을 비롯해 키트에 포함될 수 있다.

[0174] [0147] 특정 양태에서, 키트는 본 발명의 세포 요법 및 또 다른 암 요법도 포함한다. 경우에 따라서, 키트는 세포 요법 실시양태들 이외에도, 예를 들어 화학요법, 호르몬 요법 및/또는 면역요법과 같은 제2 암 요법도 포함한다. 상기 키트(들)은 대상체의 특정 암에 맞춤형으로 제작될 수 있고, 해당 대상체에 대한 각각의 제2 암 요법들을 포함할 수 있다.

[0175] [0148] 키트는 적절하게 분취된 본 발명의 조성물을 포함할 수 있다. 키트의 구성성분은 수성 배지 중에 또는 동결건조된 형태로 포장될 수 있다. 키트의 용기 수단으로는 일반적으로 바이알, 시험관, 플라스크, 병, 주사기, 또는 구성성분이 배치될 수 있는 다른 용기 수단, 바람직하게는 적절하게 분취될 수 있는 다른 용기 수단 중 적어도 하나가 포함된다. 키트 내에 1개 이상의 구성성분이 존재하는 경우, 키트는 일반적으로 추가의 구성성분들이 별도로 배치될 수 있는 제2, 제3 또는 다른 추가의 용기들을 포함할 수도 있다. 그러나, 성분들을 다양하게 조합하여 하나의 바이알에 포함시킬 수도 있다. 또한, 본 발명의 키트는 통상적으로, 상업적 판매를 위해 기밀하게 밀폐된 상태로 해당 조성물을 함유하는 수단과 임의의 기타 시약 용기들도 포함할 것이다. 이러한 용기들로는 원하는 바이알들을 보존하는 사출 성형 또는 취입 성형 플라스틱 용기들을 포함할 수 있다.

[0176] 실시예

[0177] [0149] 다음의 실시예는 본 발명의 바람직한 실시양태를 설명하기 위해 포함된다. 당업계의 숙련자라면, 하기의 실시예에 기술된 기법들이 본 발명을 잘 수행하기 위해 본 발명자들에 의해 발견된 기법들을 대표하는 것이기 때문에, 발명의 수행에 대한 바람직한 양태를 구성하는 것으로 간주될 수 있음을 알 수 있을 것이다. 그러나, 당업계의 숙련자라면, 본 명세서의 내용을 고려하여, 개시된 구체적인 실시양태에 있어서 본 발명의 개념과 범

위를 벗어나지 않으면서 여러가지 변화를 주어도 그와 비슷하거나 유사한 결과를 얻을 수 있다는 사실을 알 수 있을 것이다. 실시예 1

[0178] TNF-알파 자살 유전자

[0179] [0150] 본 발명은 일반적으로 17 kD 성분으로 가공처리되는 26 kD 종양 괴사 인자 알파 (TNF- α)의 절단불가한 돌연변이를 기반으로 하는 세포 요법용 마커 모이어티 및 자살 모이어티를 제공한다. 상기 방법을 사용하면 여러 가지 이점이 있다. 도 1은 막 절단 부위들을 제거하기 위해 TNF-알파에 돌연변이를 일으키는 실험 계획의 일례를 나타낸 것이다. 페레즈 등 (1990)이 기술한 바와 같이, 도 1의 우측 패널은 TNF-알파 돌연변이를 절단 불가하게 만드는 3개의 예시적인 TNF-알파 돌연변이를 예시하고 있다: (1) 17 kD TNF의 아미노산 잔기 1-12의 결실; (2) 17 kD TNF의 아미노산 잔기 1과 12의 결실; 및 (3) 17 kD TNF의 아미노산 잔기 1과 13의 결실. 도 1의 좌측 패널은 돌연변이를 생성하는 예로서 부위 특이적 돌연변이 유발을 위한 프라이머의 예를 제시하고 있다.

[0180] [0151] 도 2a, 2b, 2c, 2d 및 2e는 TNF-알파 돌연변이를 코딩할 수 있는 벡터들의 예를 제시한 것이다. 도 2a는 아미노산 Val1과 Pro12가 결실된 TNF-알파 돌연변이의 벡터 지도를 나타낸 것으로, 예를 들면, 상기 돌연변이는 CD19 특이적 CAR과 공동 발현되고, IL-15와도 함께 공동 발현되는데, 이들은 모두 별개의 폴리펩타이드로서 공동 발현되는 것이다. 도 2b는 발린 13이 결실된 TNF-알파 돌연변이의 벡터 지도를 나타낸 것으로, 예를 들면, 상기 돌연변이는 CD19 특이적 CAR과 개별적으로 공동 발현되고, IL-15와 함께 개별적으로 공동 발현된다. 도 2c는 아미노산 Val1과 Val 13이 결실된 TNF-알파 돌연변이의 벡터 지도를 나타낸 것으로, 예를 들면, 상기 돌연변이는 CD19 특이적 CAR 및 IL-15와 개별적으로 공동 발현된다. 도 2d는 아미노산 Val1 내지 Val 13이 결실 (13 aa 결실)된 TNF-알파 돌연변이의 벡터 지도를 나타낸 것으로, 예를 들면, 상기 돌연변이는 CD19 특이적 CAR 및 IL-15와 개별적으로 공동 발현된다. 도 2e는 아미노산 Ala-1 내지 Val 13이 결실 (14 aa 결실)된 TNF-알파 돌연변이의 벡터 지도를 나타낸 것으로, 예를 들면, 상기 돌연변이는 CD19 특이적 CAR 및 IL-15와 개별적으로 공동 발현된다.

[0181] [0152] (예로서, Val1 및 Pro12가 결실된 TNF-알파 돌연변이 및 CD19 특이적 CAR을 모두 코딩하는 벡터로 형질 도입된 세포에서의) 상기 돌연변이된 절단불가한 TNF-알파는, 예를 들어 바이러스 형질도입 또는 이의 코딩 서열의 전기천공 후에 세포 표면에서 안정적으로 발현된다 (도 3).

[0182] [0153] 상기 절단불가한 TNF- α 돌연변이를 발현하는 세포들은 (예를 들어) 에타너셉트, 인플릭시맵 또는 아달리무맵과 같은 FDA 승인된 TNF- α 항체들을 사용하는 선택적 결실을 위해서 표적으로 삼을 수 있다. 도 4a는 항-TNF 항체에 대한 실험을 나타낸 것이다. 도 4b는 돌연변이 TNF-알파를 발현하는 NK 세포의 70% 이상d1 인플릭시맵 처리 후 90분 이내에 보체 의존성 세포 독성 (CDC)에 의해 제거되는 것을 나타낸 것이다.

[0183] [0154] 도 5a는, 라지 표적에 대해 반응하여, TNF-알파 돌연변이와 CD19 특이적 CAR을 공동 발현하는 벡터로 형질도입된 NK 세포가, 항-CD19 CAR을 발현하는 NK 세포와 비교할 때 더 많은 효과기 사이토카인을 생성하며 보다 효율적으로 탈파립화됨을 보여주는 것이다. 도 5b에서, 라지 표적은 TNF-알파 돌연변이 (예로서 Val1 및 Pro12의 결실) 및 CD19 특이적 CAR을 개별적으로 공동 발현하는 벡터로 형질도입된 NK 세포에 의해 효율적으로 사멸된다. 1번 위치에서 발린, 12번 위치에서 프롤린이 결실된 TNF-알파 돌연변이 단백질은 생물학적으로 활성으로, 직접적인 세포-세포 접촉시 강한 항종양 반응을 매개하여 형질도입된 세포들의 항종양 활성에 추가적인 원인이 된다.

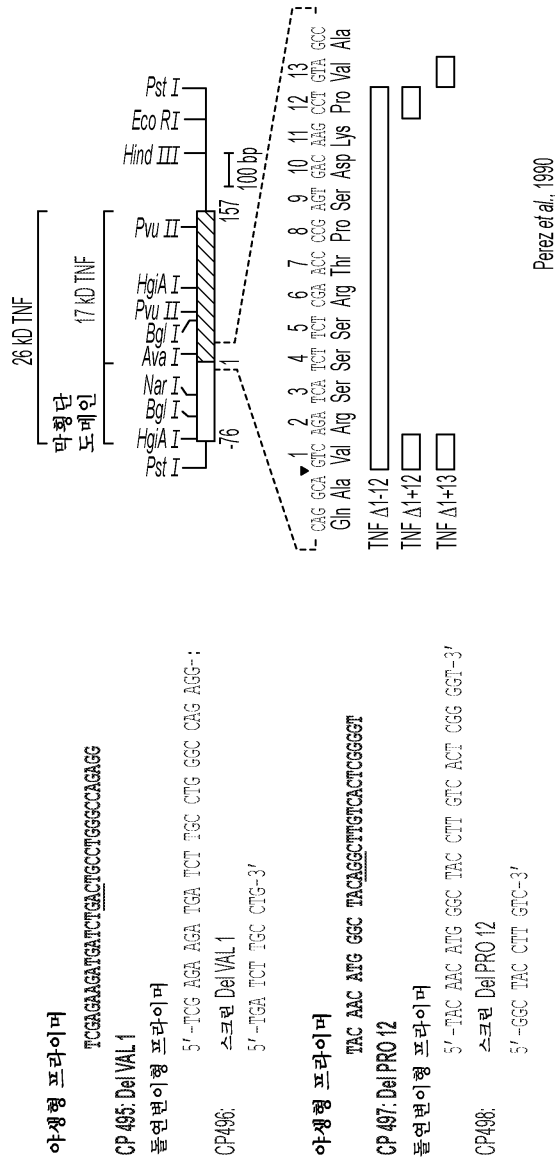
[0184] [0155] CD19 특이적 CAR과 TNF-알파 돌연변이를 개별적으로 발현하는 벡터를 함유하는 형질도입된 NK 세포들은 표적외 활성을 나타내지 않는다 (도 6). 도 7은 CD19-특이적 CAR과 TNF-알파 돌연변이를 개별적으로 발현하는 벡터로 형질도입된 NK 세포들이 표적외 활성을 나타내지 않으며 비특이적으로 TNF-알파를 분비하지 않음을 입증한 것이다. 도 8은 TNF 수용체 1과 2 대 TNF-알파 항체인 인플릭시맵과 아달리무맵에 대한 TNF-알파 수용체 결합 부위들이 서로 다르다는 것을 보여주는 것이다. 이는 TNF-알파 유전자에서의 돌연변이가 TNF- α 돌연변이 단백질을 인지하는데 있어서 TNF-알파 항체의 능력에 부정적인 영향을 미치지 않을 것이라는 사실, 즉 TNF-알파 돌연변이가 계속해서 자살 유전자로 사용될 수 있고, 항체의 표적이 될 수 있음을 입증하는 것이다.

[0185] [0156] 추가의 안전성 연구를 사용할 수도 있다. 예를 들어, CD19 특이적 CAR NK 세포를 사용하여 생체내 귀과의 독성 연구를 수행할 수 있다. 예를 들어, 확립된 라지 NSG 마우스 모델에서, 당업자라면 누구나 TNF-알파 WT 대 TNF-알파 돌연변이인, IL15도 발현하는 CD19 특이적 CAR NK 세포를 비교할 수 있다. 그러나, 이러한 돌연변이들은 과거에 마우스에서 시험된 바 있고 이들의 안전성이 입증되었다 (Karp et al., 1992).

- [0186] [0157] 당업자라면 누구나 시냅스 및 신호전달 연구를 이용하여 TNF-알파 돌연변이 대 TNF-알파 야생형 대 TNF-알파 수용체 1 (TNF-R1) 및 TNF-알파 수용체 2 (TNF-R2)를 갖는 외인성 TNF-알파의 상호작용에 대한 특성을 분석할 수 있다. 이러한 연구들은 (TNFR2가 아닌 TNFR1을 발현하는) 라모스 (Ramos) 세포에서 아폽토시스 유도 및 카스파제 (TNF-R1의 다운스트림)의 측정을 도입할 수도 있다. 추가로 또는 대안으로, TNFR2와 TNFR1을 모두 발현하는 주르캣 (Jurkat) 세포에서 NFkappaB를 측정할 수도 있다.
- [0187] 실시예 2
- [0188] TNF- α mut-CAR19-IL15 대 iC9-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 CAR-NK 세포의 항종양 활성의 비교
- [0189] [0158] 도 11은 TNF-알파 mut-CAR19-IL15 작제물 또는 유도성 카스파제 9 (iC9)-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 제대혈로부터 유래된 CAR-NK 세포의 항종양 활성의 비교를 제시한 것이다. 도 11a에서, 라지 종양이 있는 NSG 마우스는 TNF-알파 돌연변이-CAR19-IL15 작제물로 형질도입되거나, 또는 iC9-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 3×10^6 개의 CAR 제대혈 NK 세포들을 투여받았다. 도 11b는 시간의 경과에 따른 생존율을 나타낸 것이다. TNF-알파 mut-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 마우스는 대조군 마우스 및 iC9-CAR19-IL15 작제물로 형질도입된 마우스보다 오래 살았다.
- [0190] 참고문헌
- [0191] [0159] 본 명세서에 언급된 모든 특허와 간행물들은 본 발명의 실시양태들이 속한 당업계 숙련자들의 기술 수준을 나타낸다. 모든 특허와 간행물들은 각 개개의 간행물이 구체적으로 그리고 개별적으로 참조로 포함되었던 것과 동일한 정도로 그들의 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0192] 특허
- [0193] [0160] U.S. Patent No. 5,118,500
- [0194] [0161] U.S. Patent No. 6,143,866
- [0195] 간행물
- [0196] [0162] Karp, Stephen E., Hwu, Patrick, et al. (1992) In vivo Activity of Tumor Necrosis Factor (TNF) Mutants: Secretory but non Membrane-Bound TNF Mediates the Regression of Retrovirally Transduced Murine Tumor. *J. Immunol.*, vol. 149(6): 2076-2081.
- [0197] [0163] Perez, C., Albert, I. *et al.* (1990) A Nonsecretable Cell Surface Mutant of Tumor Necrosis Factor (TNF) Kills by Cell-to-Cell Contact. *Cell*, vol. 63, 251-258.
- [0198] [0164] 본 발명과 그 장점을 상세하게 설명하였으나, 첨부된 청구항들에 의해 정의된 본 발명의 개념과 범위를 벗어나지 않으면서 다양한 변경, 치환 및 변형을 본원에서 수행할 수 있다는 점을 이해해야 할 것이다. 본 출원의 범위는 본 명세서에 기재되는 공정, 기계, 제조, 물질의 조성물, 수단, 방법들 및 단계들의 특정 실시형태에 한정하려는 것은 아니다. 당해 분야의 통상의 기술자라면 누구나 본 발명의 발명으로부터 용이하게 알 수 있듯이, 본원에 기재된 해당 실시양태들과 실질적으로 동일한 기능을 수행하거나, 또는 실질적으로 동일한 결과를 달성하는 현재 존재하거나 차후에 개발될 공정, 기계, 제조물, 물질의 조성물, 수단, 방법 또는 단계들 역시 본 발명에 따라 이용할 수 있다. 따라서, 첨부된 청구항들은 이러한 공정, 기계, 제조물, 물질의 조성물, 수단, 방법 또는 단계들을 청구범위 내에 포함시키고자 한다.

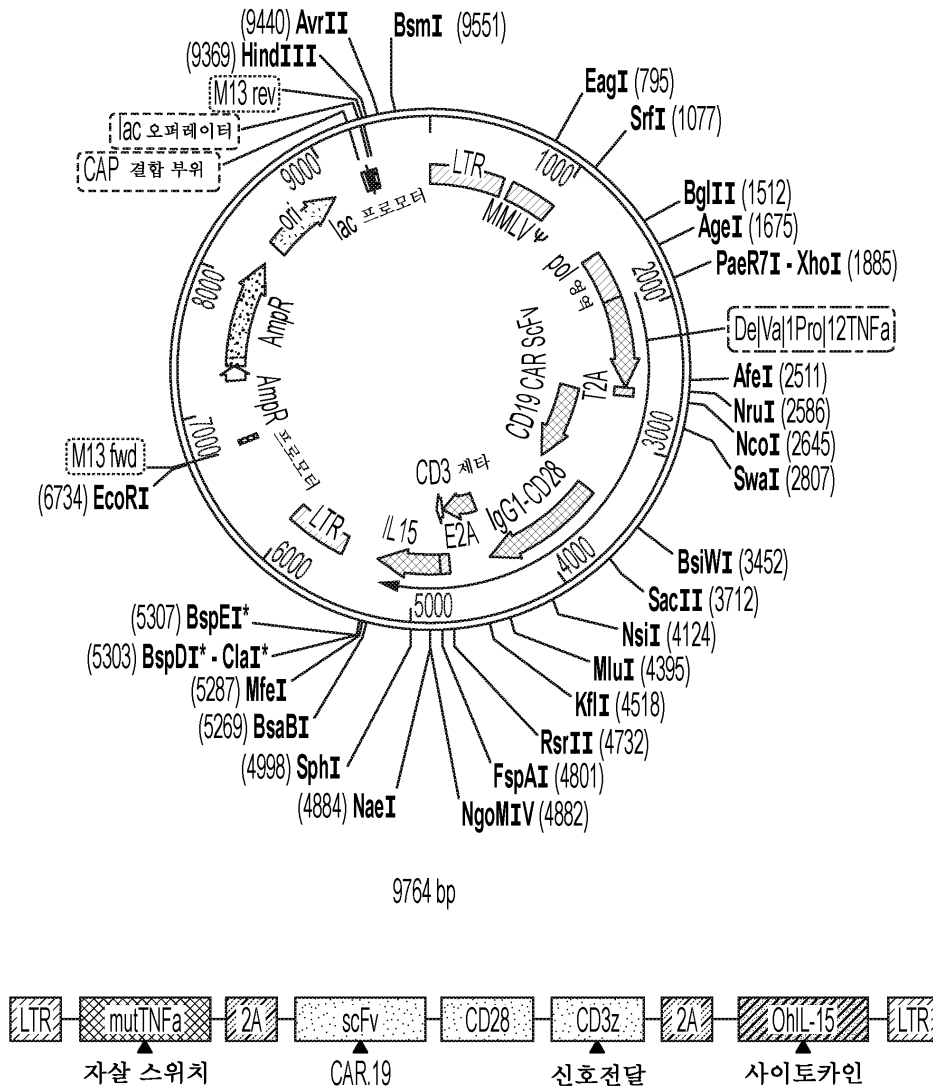
도면

도면1

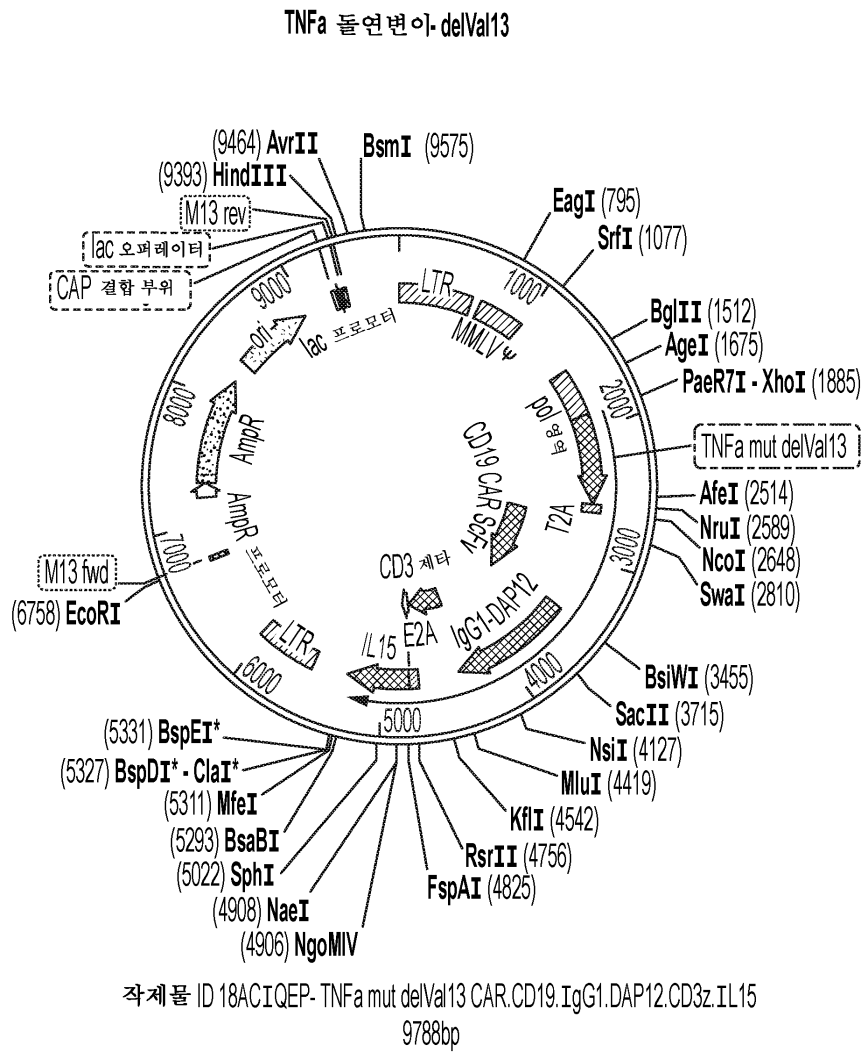


도면2a

TNF α 돌연변이-*delVal1* 및 *delPro12*

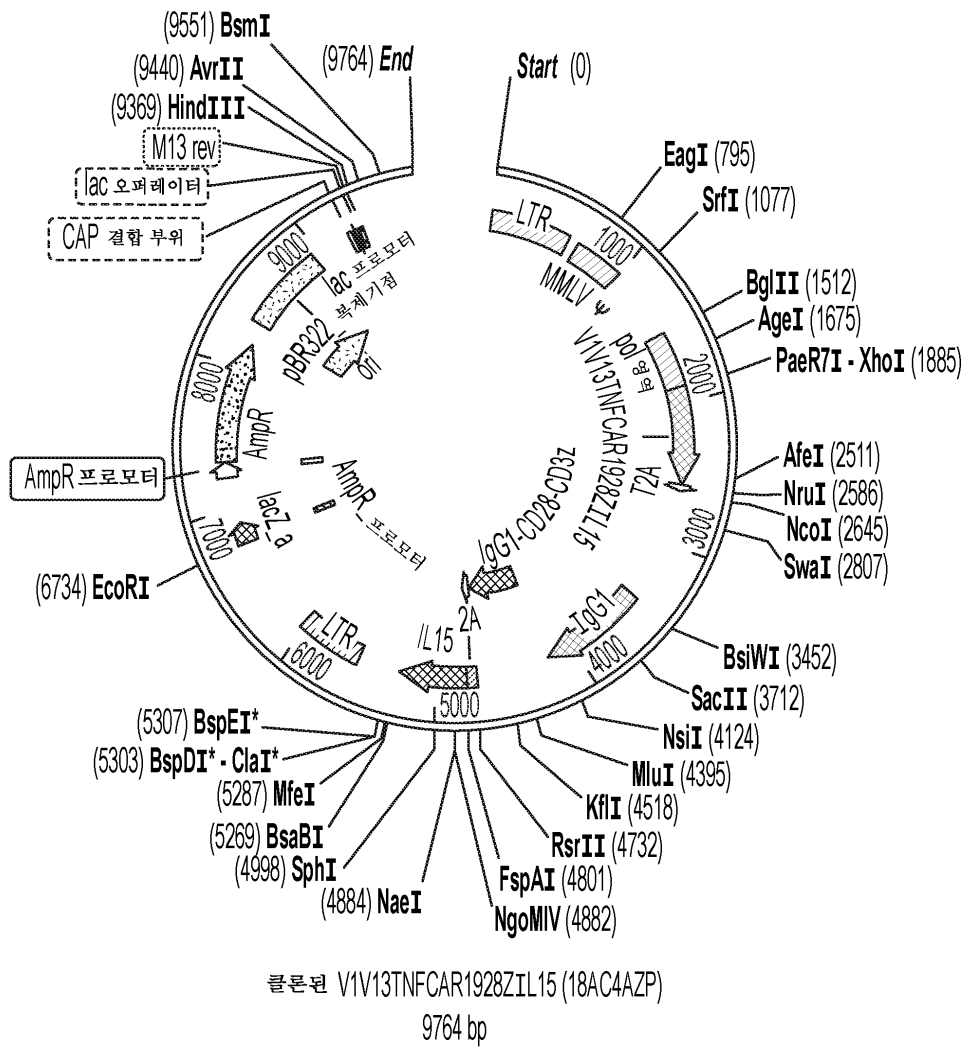


도면2b



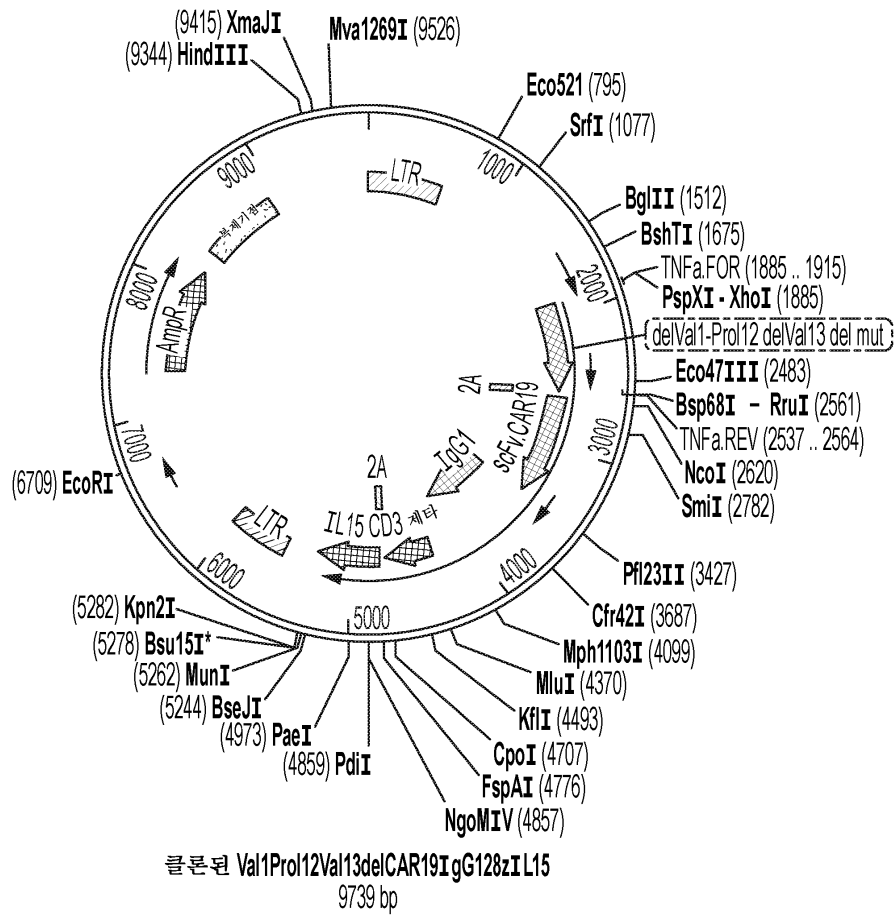
도면2c

TNF α 돌연변이-delVal1 및 delVal13



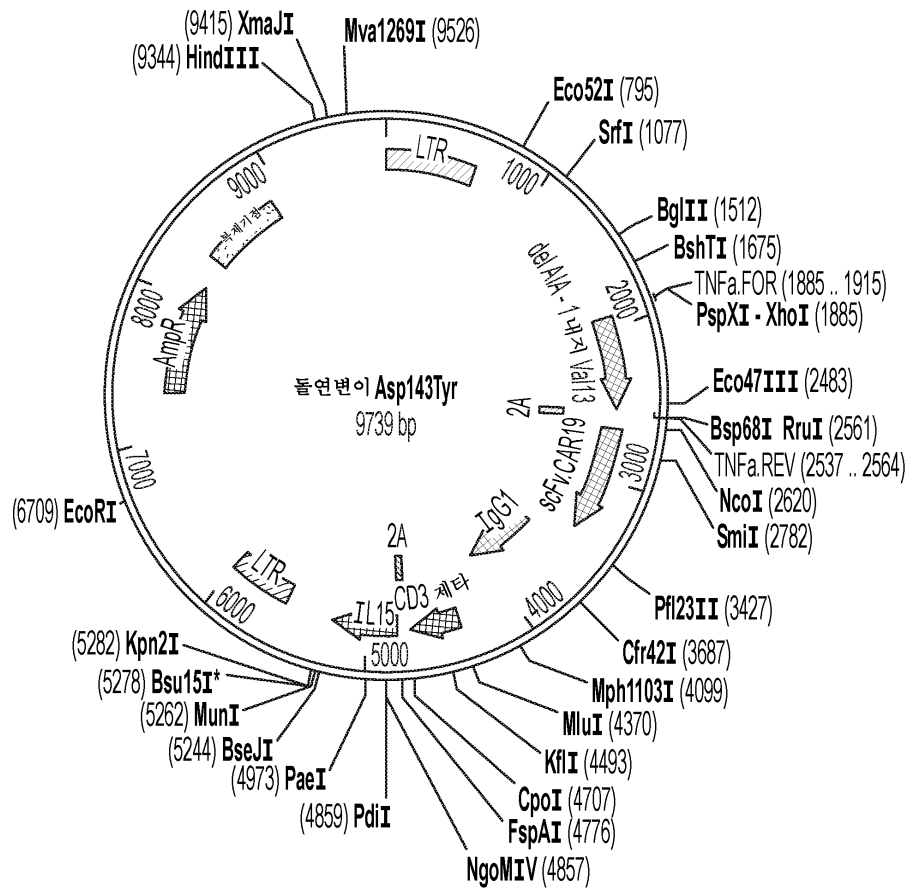
도면2d

TNF α 돌연변이- delVal1 내지 Prol12 del Val13 (결실 13 aa)

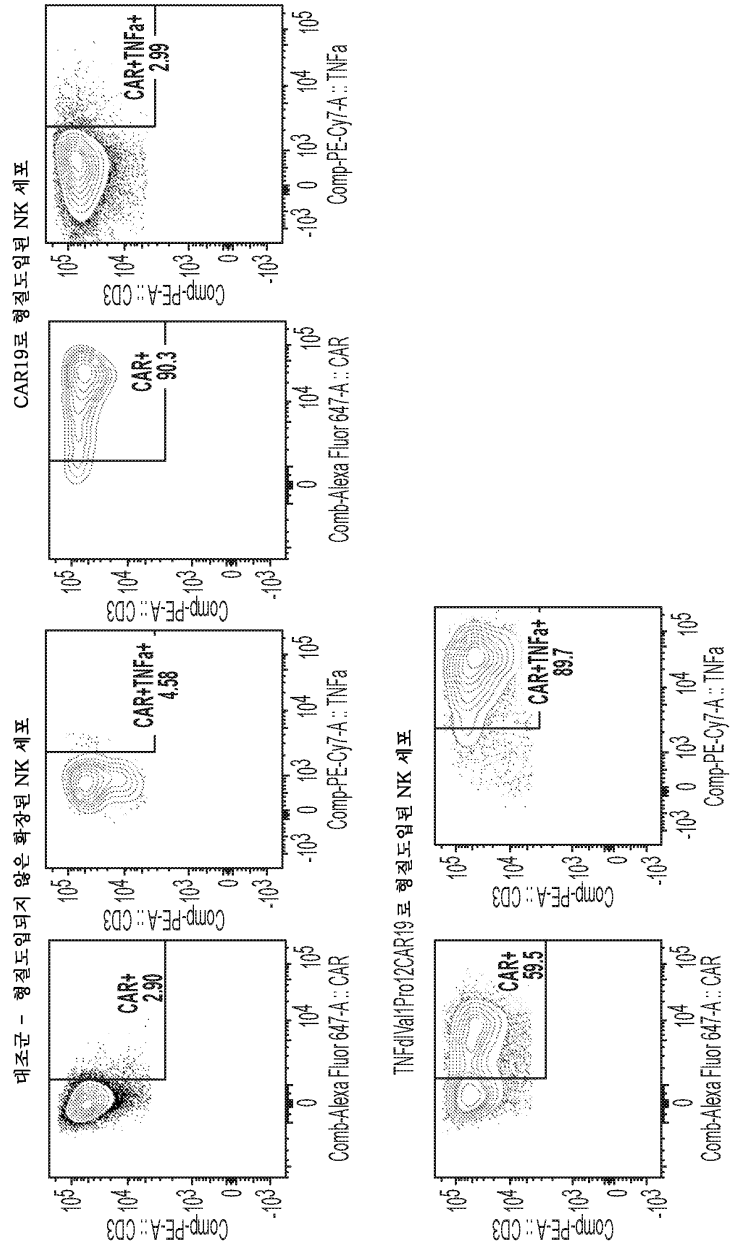


도면2e

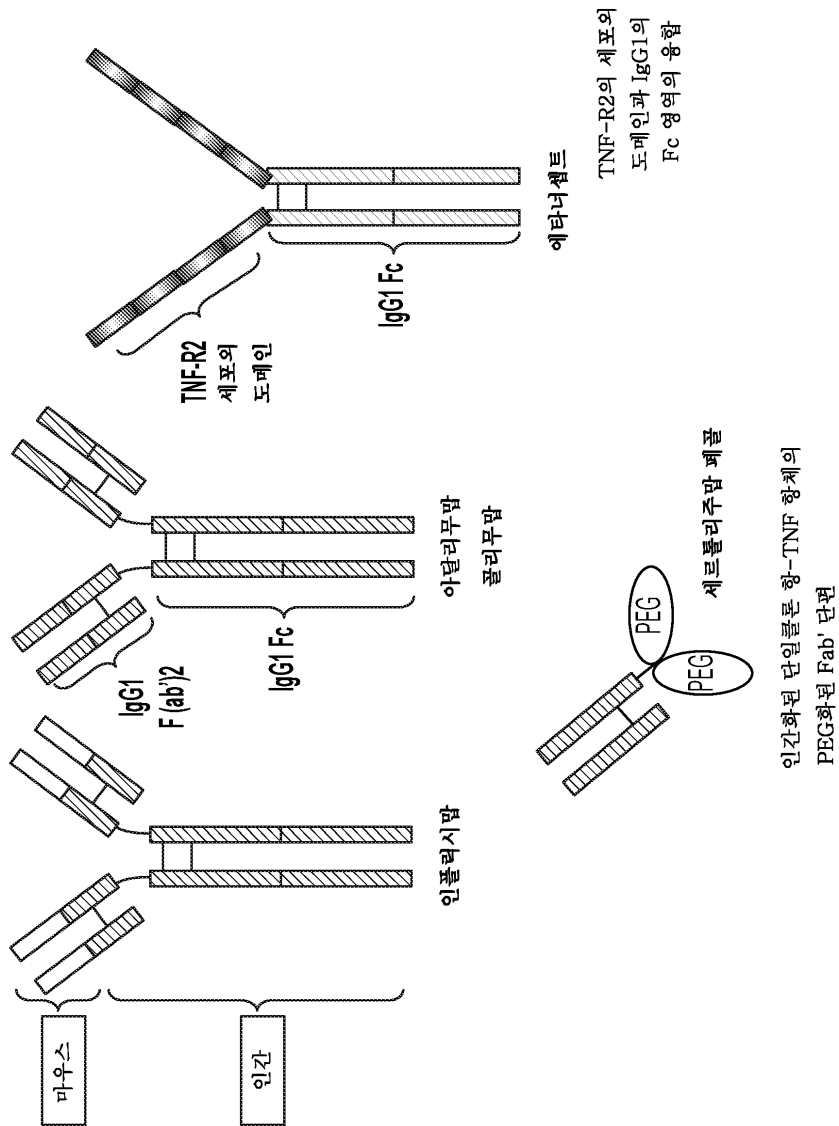
TNF α 돌연변이-delAla-1 내지 Val13 (결실 14aa)



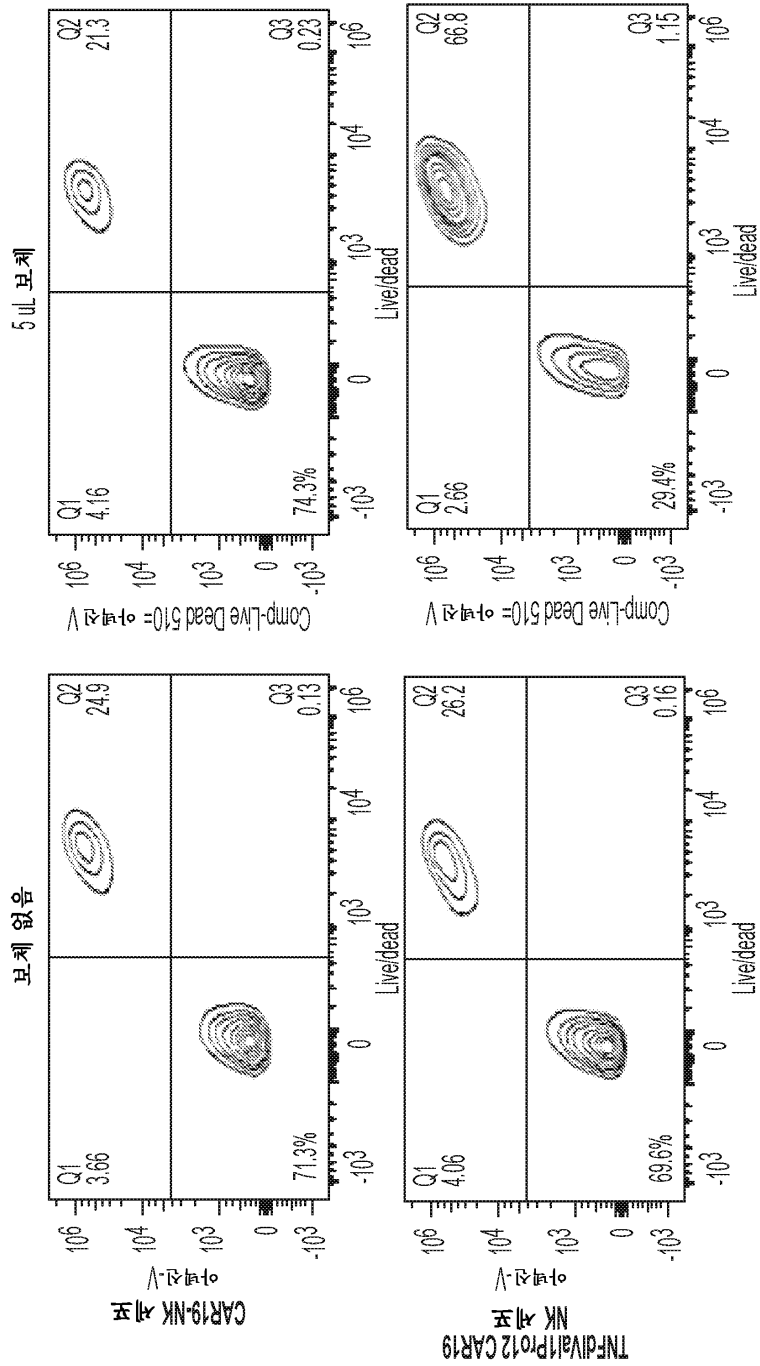
도면3



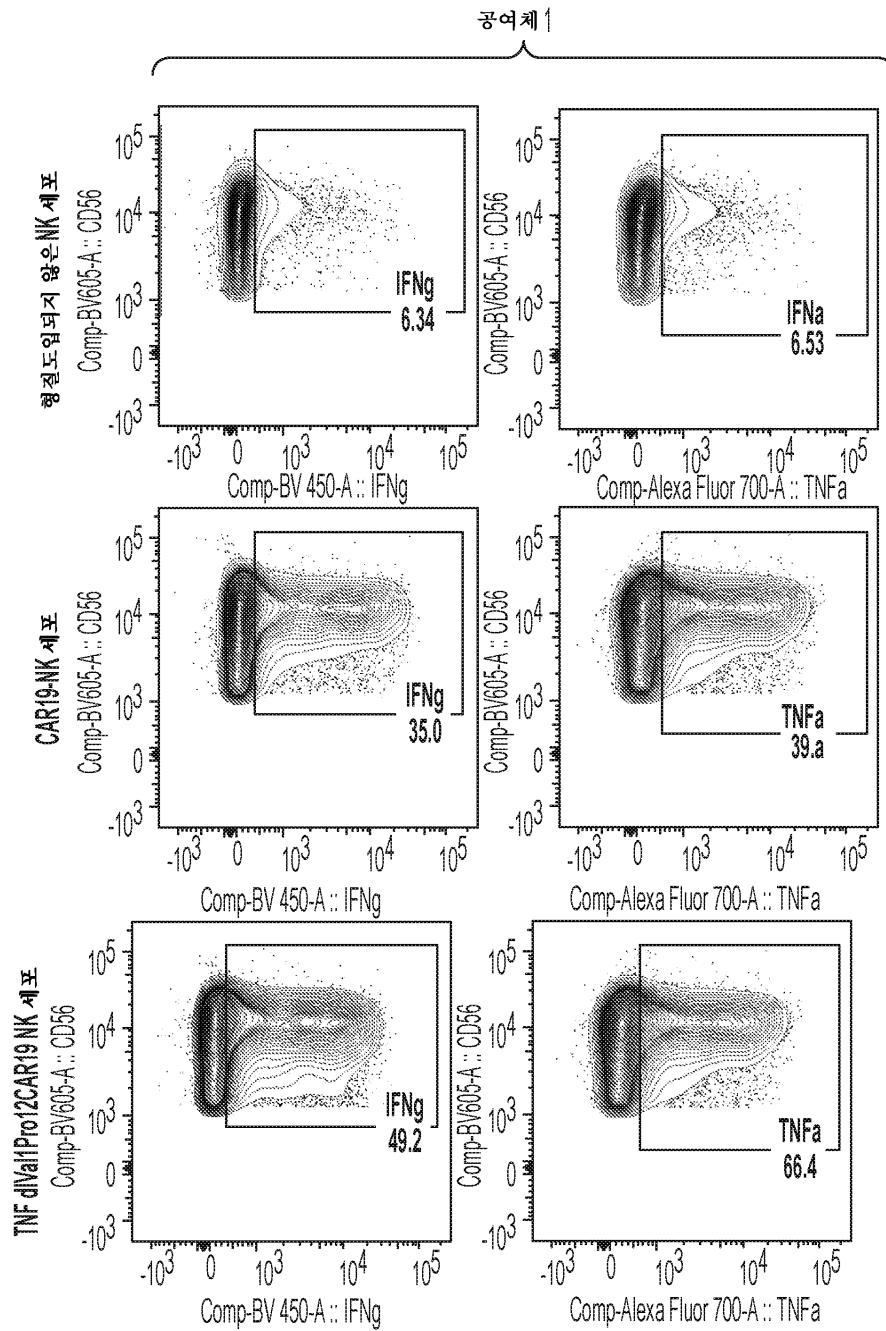
도면4a



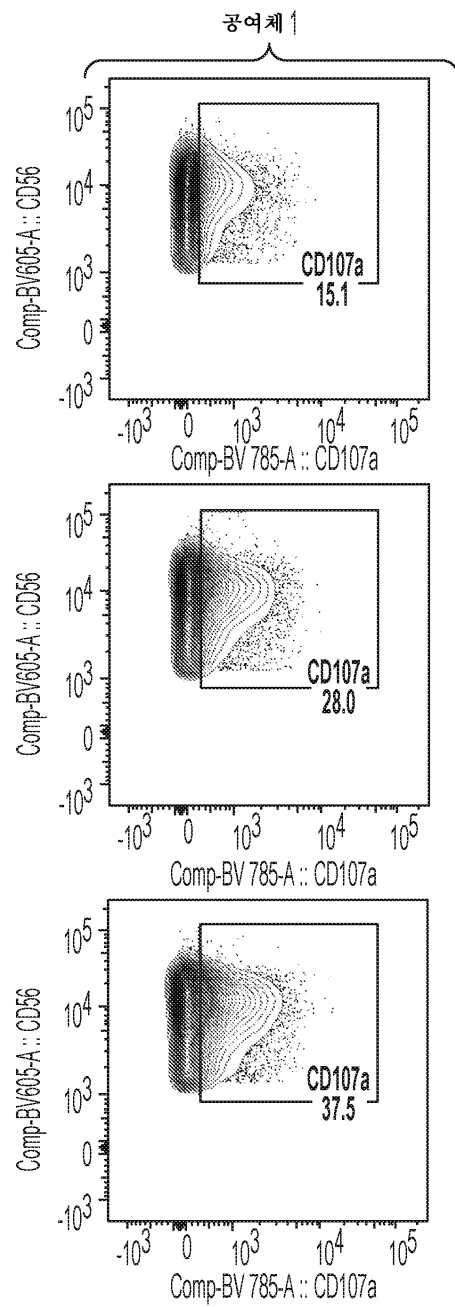
도면4b



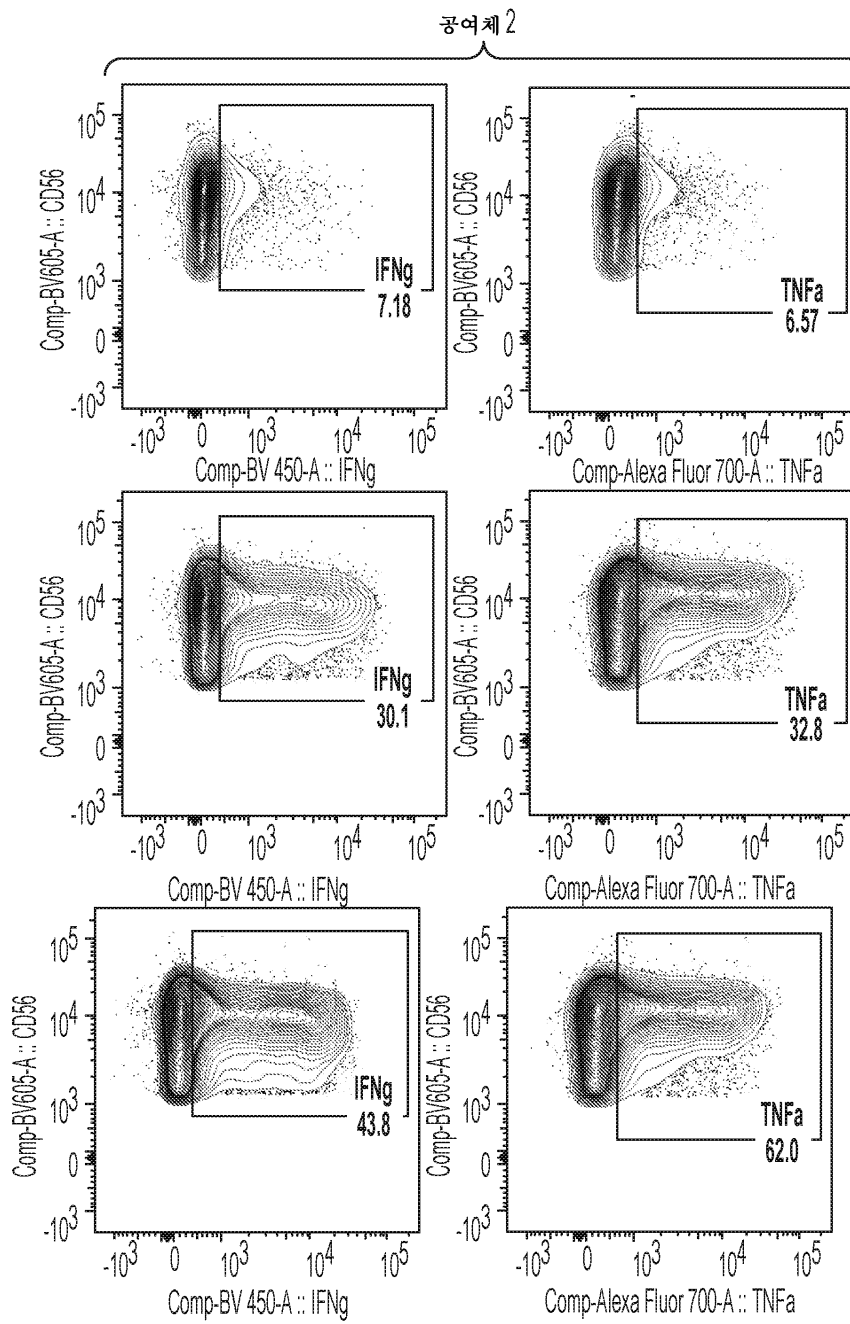
도면5aa



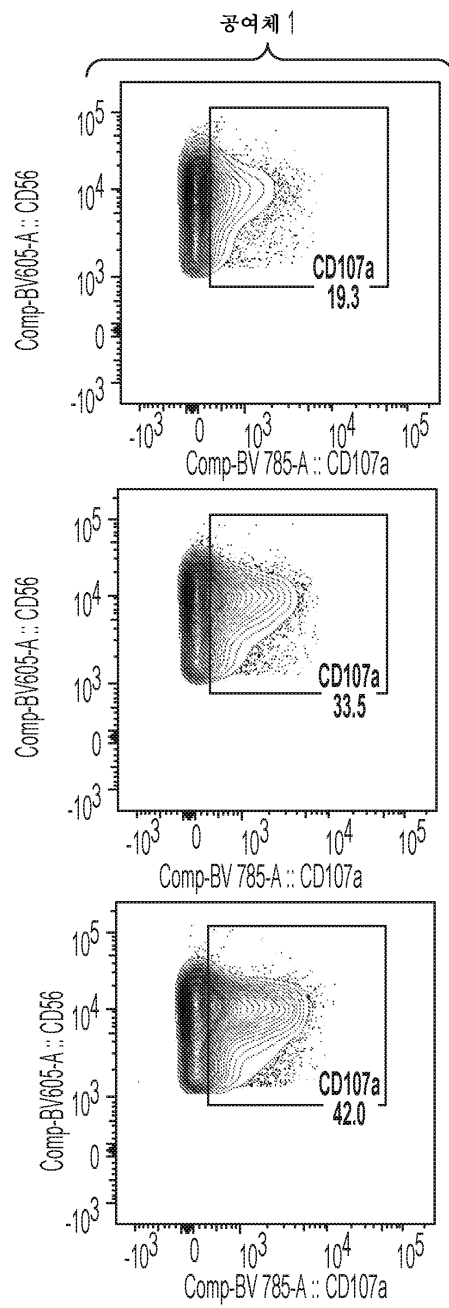
도면5ab



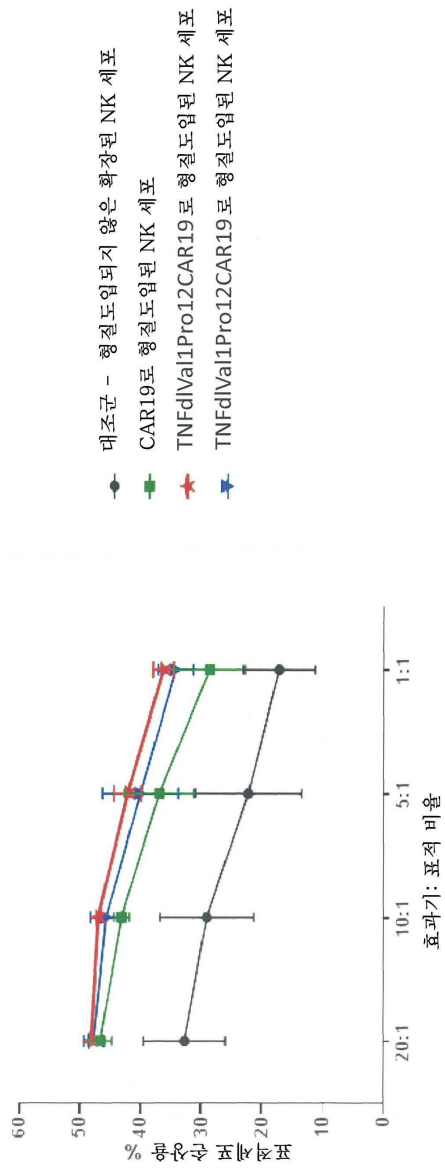
도면5ac



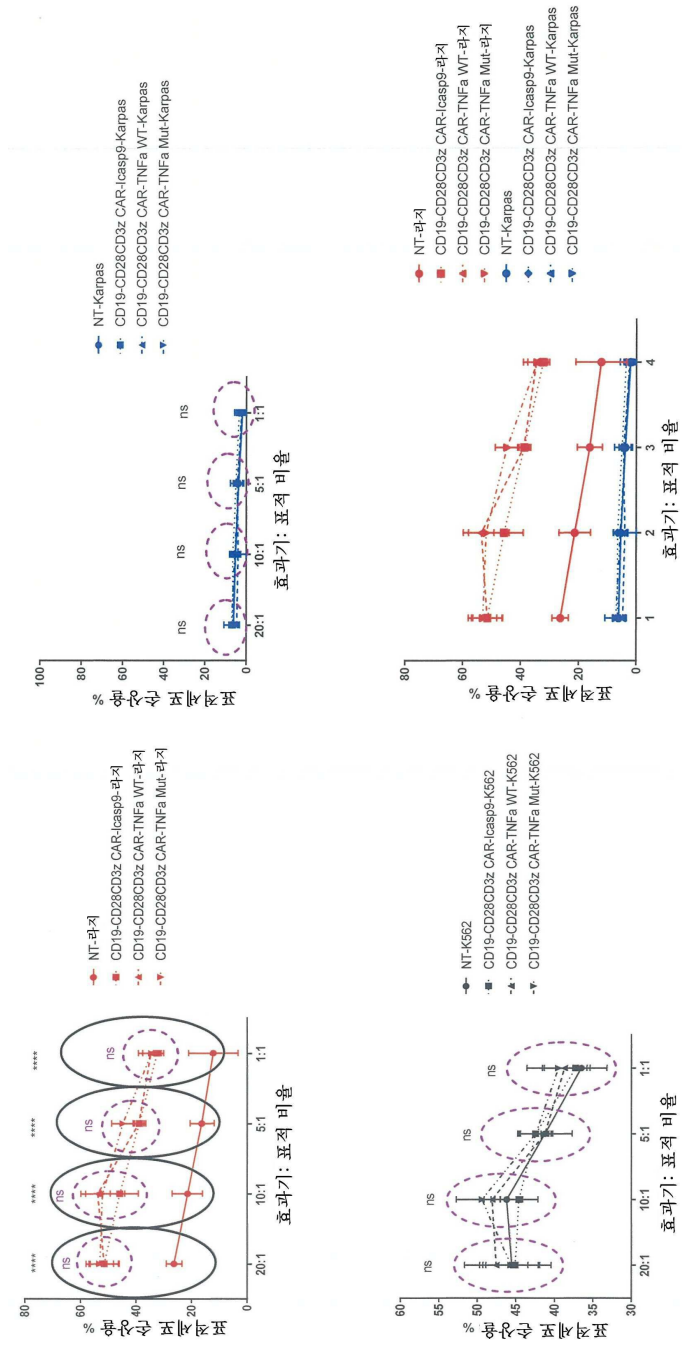
도면5ad



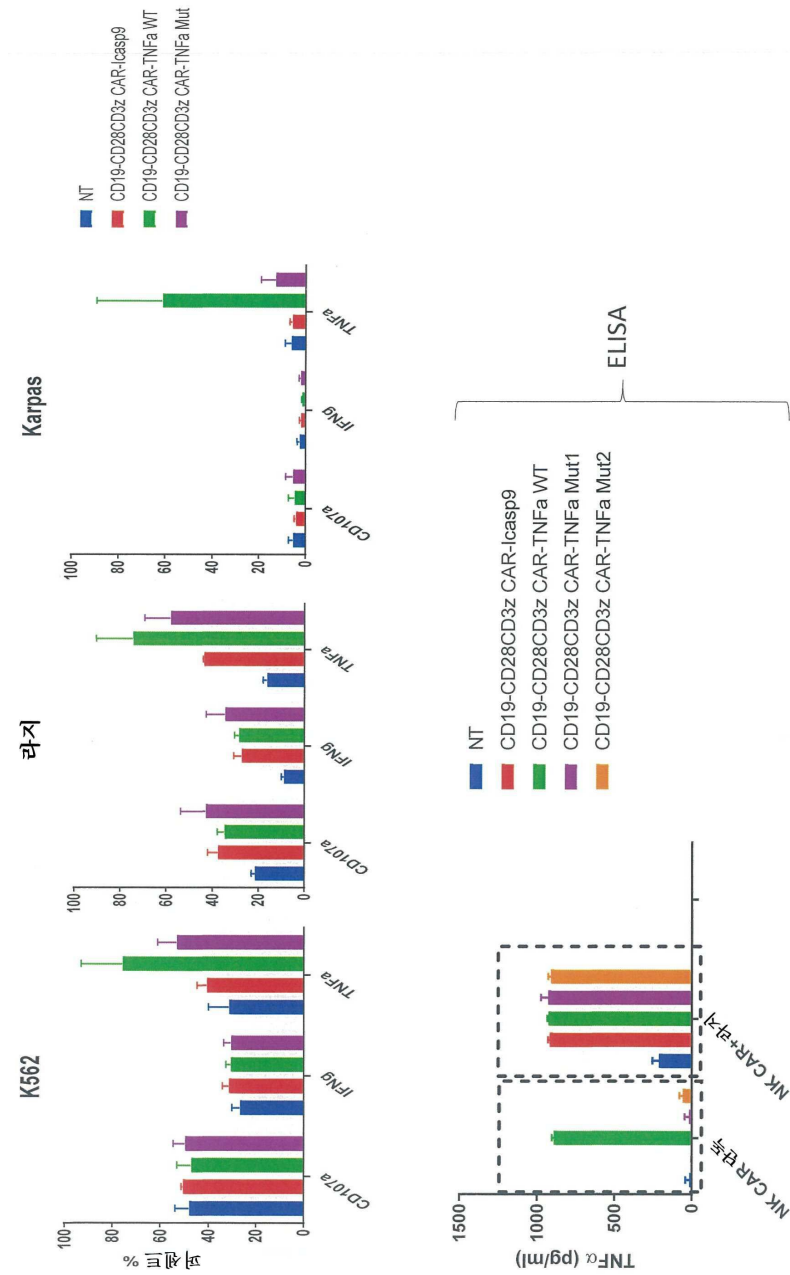
도면5b



도면6



도면7



도면8

MSTESMIRDVELAEELPKKTGGPQGSRRCLFLSFLIVAGATTLLHFGVIGPQREEFPRD
 LSLISPLAQAAHVVANPQAEGLQWLNRRANALLANGVELRDNLVVPSEGLIYSQVLFKG
 QGCPSTHVLTHITISRIAVSYQTKVNLISAIKSPCQRETPEGAEEKPWVEPIVLGGVFQLEKGDRL
 SAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL

1줄로 된 밑줄은 TNF 수용체 1과 2에 대한 수용체 결합 부위들을 나타냄 -
 이러한 부위들은 TNF 알파와 그 수용체들의 상호작용을 손상시키도록 돌연변이화될 수 있음.

2줄로 된 밑줄 아달리무맙 및 인플릭시맙 Fab 단편과의 상호작용을 위한

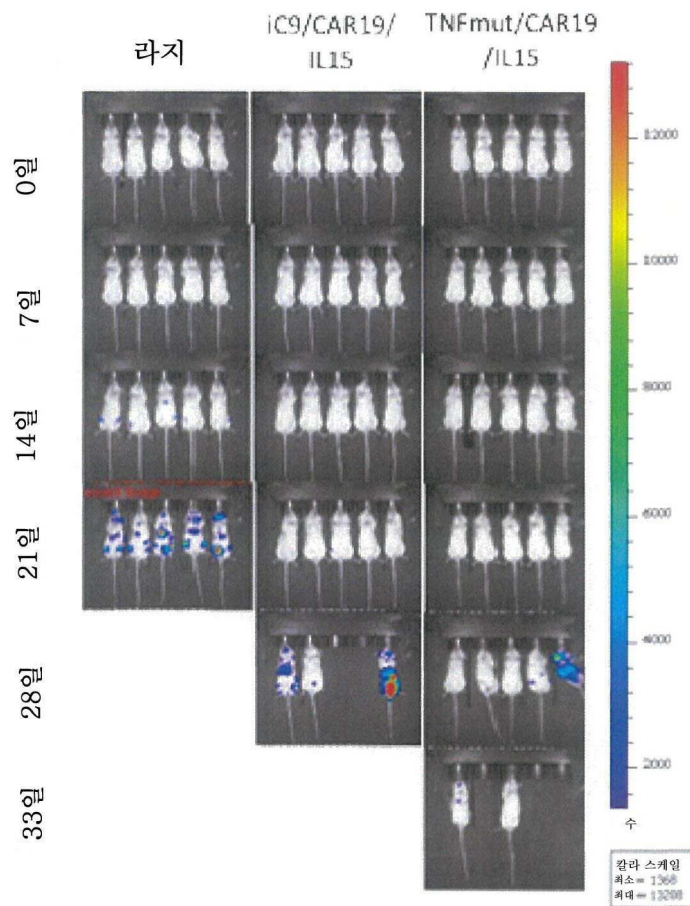
E-F LOOP-표적. 이와는 대조적으로, E-F LOOP는 TNFα와 TNFR1 및 TNFR2의
 복합체 상호작용에 관여하지 않음

도면10

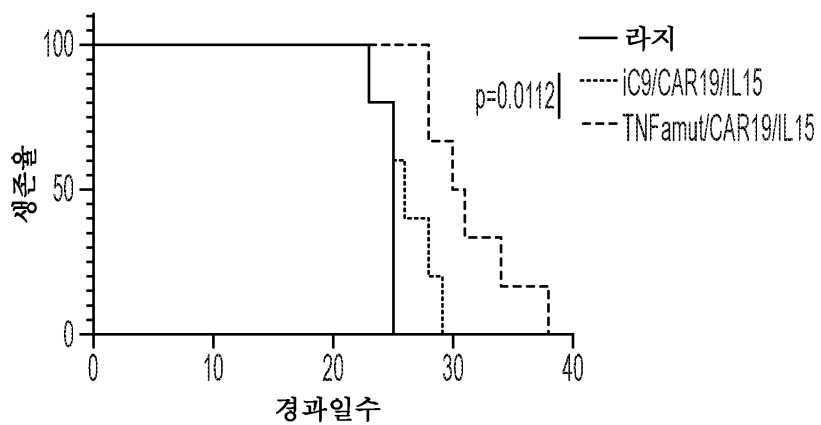
atgagcactgaaaTGCAATCCCGGAAGGGGGTCTGGCACgaggaggcgctcccaagaagacagggggggcccccaggggct
ccaggcgggtgcttggttctctcagcctcttctctctctgatcggtggcaggcgccaccagctctctTcctgctgcaacttggagtgatcgggccc
ccagagggaagagttccccagggacctctctctaatacagc~~eeefgg~~ggccgcagccccatgttagcaaacctcaagctgagggggcagct
ccagtggtgaaaccgcccggggccaatgcctcctctggccaatggcggtggagctgagagataaccagctgggtggtagccatcagagggggcctgt
acctcatctactccaggctcttcaaggggccaaggctgccctccaccatgtctctcaccacacacatcagcgcgcatcgccgtctcc
CaccagaccaagggtcaacctctctTCgcatcaagagccctgcagaggggagacccagagggggctgagggccaagccctgggtatg
agcccatctatctgggaggggtctccagctggagaagggtgaccgactcaTgcctgagatcaatcgggcccgactatctTactttgccga
gtAtggggcagggtctacttgggatcatgcccgtcg

MSTEMHPGRGSWHFEALPKKTGGPQQSRRCLFLSLFSLIVAGATTLLFLLHFGVIGPQREEFPRDLSLISPLAQAHVVAN
PQAEGLQWLNRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYIYSQVLFGQGCPSHVLTLHTISRIAVSHQTKVNILLFAIKSP
CQRETPEGAEAKPWYEPYLGGVFQLEKGDRLIAEINRPDYLYFAEYQGQVYFGIIALS

도면11a



도면11b



서열 목록

<110> THE BOARD OF REGENTS OF THE UNIVERSITY OF TEXAS SYSTEM

<120> SUICIDE GENE

<130> UTF.C.P1151WO

<140><141><150> 62/791,464

<151> 2019-01-11

<150> 62/773,372

<151> 2018-11-30

<150> 62/769,405

<151> 2018-11-19

<160> 59

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 231

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1	5	10	15
Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe			
	20	25	30
Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe			
	35	40	45
Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro			
	50	55	60
Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Arg Ser Ser Ser			
65	70	75	80
Arg Thr Pro Ser Asp Lys Val Ala His Val Val Ala Asn Pro Gln Ala			
	85	90	95
Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ala			
	100	105	110
Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser Glu Gly			
	115	120	125
Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly Cys Pro			

130 135 140
 Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser
 145 150 155 160
 Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro Cys Gln
 165 170 175
 Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu Pro Ile
 180 185 190
 Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala

195 200 205
 Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly Gln Val
 210 215 220
 Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

225 230

<210> 2

<211> 696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag 60

acaggggggc ccaggggctc caggcgggtgc ttgttctca gccttttctc cttcctgac 120

gtggcaggcg ccaccacgtt cttctgcctg ctgcactttg gattgatcgg ccccagagg 180

gaagagtacc ccagggaact ctctctaata agccctctgg ccagggaag atcatcttct 240

cgaacccga gtgacaaggt agcccatgtt gtagcaaacc ctcaagctga ggggcagctc 300

cagtggctga accgccgggc caatgccctc ctggccaatg gcgtggagct gagagataac 360

cagctgggtg tgccatcaga gggcctgtac ctcatctact ccagggtcct cttaagggc 420

caaggctgcc cctccacca tgtgtctctc acccacacca tcagccgcat cgccgtctcc 480

taccagacca aggtcaacct cctctctgcc atcaagagcc cctgccagag ggagaccca 540

gagggggctg aggccaagcc ctggtatgag cccatctatc tggggagggt cttccagctg 600

gagaagggtg accgactcag cgctgagatc aatcgccccg actatctcga ctttgccgag 660

tctgggcagg tctactttgg gatcattgcc ctgtcg

696

<210> 3

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15
Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30
Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe

35 40 45
Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

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

65 70 75 80
Ala Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala

85 90 95
Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val

100 105 110
Val Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys

115 120 125
Gly Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser

130 135 140
Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile

145 150 155 160
Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro

165 170 175
Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly

180 185 190
Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala

195 200 205
Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

210 215 220

<210> 4
<211> 663
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 4

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag	60
acaggggggc cccagggtc caggcggtgc ttgttctca gcctcttctc ctctctgac	120
gtggcaggcg ccaccacgt cttctgcctg ctgcactttg gattgacgg ccccagagg	180
gaagagtcc ccaggacgt ctctctaac agccctctgg ccaggcagc ccatgttgta	240
gcaaaccctc aagctgaggg gcagctccag tggctgaacc gccgggcaa tgccctcctg	300
gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtggtgc catcagagg cctgtacctc	360
atctactccc aggtcctctt caagggcaa ggctgccct ccacccatgt gtcctcacc	420
cacaccatca gccgcatcg cgtctcctac cagaccaagg tcaacctct ctctgccatc	480
aagagccct gccagaggga gacccagag ggggctgagg ccaagccctg gtatgagccc	540
atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcagcg tgagatcaat	600
cgccccgact atctcgactt tgccgagtct gggcaggtct actttgggat cattgccctg	660
tcg	663

<210> 5
<211> 231
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 5

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Arg Ser Ser Ser

65 70 75 80

Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Ala His Val Val Ala Asn Pro Gln Ala

85 90 95

Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ala

100 105 110

Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser Glu Gly

115 120 125

Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly Cys Pro

130 135 140

Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu Pro Ile

180 185 190

Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala

195 200 205

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

210 215 220

Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

225 230

<210> 6

<211> 696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag	60
acaggggggc ccaggggctc caggcgggtg ttgttctca gcctcttctc cttcctgac	120
gtggcaggcg ccaccacgt cttctgcctg ctgcacttg gagtgatcg ccccagagg	180
gaagagtcc ccaggacgt cttctaatc agccctctgg ccaggcaag atcatcttct	240
cgaacccga gtgacaagc tgcccatgt tagcaaacc ctcaagctga ggggcagctc	300
cagtggctga accgccgggc caatgccctc ctggccaatg gcgtggagct gagagataac	360
cagctggtgg tgccatcaga gggcctgtac ctcatctact ccaggtcct cttcaagggc	420
caaggtgcc cctccacca tgtgtctctc acccacacca tcagccgat cgcctctcc	480
taccagacca aggtcaacct cctctctgcc atcaagagcc cctgccagag ggagaccca	540
gagggggctg aggccaagcc ctggtatgag cccatctatc tgggaggggt cttccagctg	600
gagaagggtg accgactcag cgctgagatc aatcgccccg actatctcga ctttgccgag	660
tctgggcagg tctactttgg gatcattgcc ctgtcg	696

<210> 7

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

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

 100 105 110
 Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser
 115 120 125
 Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly
 130 135 140
 Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala
 145 150 155 160
 Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro

 165 170 175
 Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu
 180 185 190
 Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu
 195 200 205
 Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
 210 215 220
 Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
 225 230

<210> 8

<211> 157

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Val Arg Ser Ser Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val
 1 5 10 15
 Val Ala Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg
 20 25 30

Ala Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu
35 40 45

Val Val Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe

50 55 60

Lys Gly Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys

100 105 110

Pro Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys

115 120 125

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

130 135 140

Ala Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

145 150 155

<210> 9

<211> 113

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

DAP12 sequence"

<400> 9

Met Gly Gly Leu Glu Pro Cys Ser Arg Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu

1 5 10 15

Leu Ala Val Ser Gly Leu Arg Pro Val Gln Ala Gln Ala Gln Ser Asp

20 25 30

Cys Ser Cys Ser Thr Val Ser Pro Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met

35 40 45

Gly Asp Leu Val Leu Thr Val Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu

50 55 60

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

65 70 75 80
Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly
85 90 95
Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr
100 105 110
Lys

<210> 10

<211> 342

<212> DNA

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:
DAP12 sequence"

<400> 10

atggggggac ttgaaccctg cagcaggctc ctgctcctgc ctctcctgct ggctgtaagt 60

ggctctccgtc ctgtccaggc ccaggcccag agcgattgca gttgctctac ggtgagcccc 120
ggcgtgctgg cagggatcgt gatgggagac ctggtgctga cagtgtcat tgccctggcc 180
gtgtacttcc tgggccggct ggtccctcgg gggcgagggg ctgcggaggc agcgacccgg 240
aaacagcgta tctactgagac cgagtcgcct taccaggagc tccagggtca gaggtcggat 300
gtctacagcg acctcaacac acagaggccg tattacaaat ga 342

<210> 11

<211> 182

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:
CD28 sequence"

<400> 11

Lys Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser
1 5 10 15

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

Ala Ala Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro
 65 70 75 80
 Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly
 85 90 95
 Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro
 100 105 110
 Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr
 115 120 125

Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly
 130 135 140
 Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln
 145 150 155 160
 Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln
 165 170 175
 Ala Leu Pro Pro Arg Gly
 180

<210> 12

<211> 209

<212> DNA

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

CD28 sequence"

<400> 12

attttgggtg ctggtgggtg ttggtggagt cctggcttgc tatagcttgc tagtaacagt 60
 ggcctttatt attttctggg tgaggagtaa gaggagcagg ctctgcaca gtgactacat 120

gaacatgact cccgcgcgcc ccgggcccac ccgcaagcat taccagccct atgccccacc 180

acgcgacttc gcagcctatc gctcacgcg 209

<210> 13

<211> 247

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

IgG1 hinge sequence"

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

35 40 45

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

50 55 60

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

100 105 110

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
180 185 190

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
195 200 205

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
210 215 220

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
225 230 235 240

Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys
245

<210> 14

<211> 734

<212> DNA

<213> Unknown

<220

><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

IgG1 hinge sequence"

<400> 14

gtacgtcact gtctcttcac aggatcccgc cgagcccaaa tctcctgaca aaactcacac	60
atgccaccgc tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg tcagttcttc tcttcccccc	120
aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga	180
cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca	240
taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt	300
cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa	360
caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga	420
accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg accaagaacc aggtcagcct	480
gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg	540
gcaaccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt	600
cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag caggggaacg tcttctcatg	660
ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc	720
gggtaaaaaa gatc	734

<210> 15

<211> 9764

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

aatgaaagac cccacctgta ggtttggcaa gctagcttaa gtaacccat ttgcaaggc	60
atggaaaaat acataactga gaatagaaaa gttagatca aggtcaggaa cagatggaac	120
agctgaatat gggccaaaca ggatatctgt ggtaagcagt tctgccccg gtcagggcc	180
aagaacagat ggaacagctg aatatgggcc aaacaggata tctgtggtaa gcagttcctg	240
ccccggctca gggccaagaa cagatgggtcc ccagatgcgg tccagccctc agcagtttct	300
agagaacat cagatgttcc cagggtgccc caaggacctg aaatgacct gtgccttatt	360
tgaactaacc aatcagttcg cttctcgctt ctgttcgcgc gcttatgctc cccgagctca	420
ataaaagagc ccacaacccc tctctgggg cgccagtcct ccgattgact gactcggccg	480
ggtaccctgt tatccaataa accctcttgc agttgcatcc gacttgtggt ctgctgttc	540
cttgggaggg tctcctctga gtgattgact acccgtcagc gggggctctt catttggggg	600
ctcgtccggg atcgggagac cctgcccag ggaccaccga cccaccaccg ggaggttaagc	660
tggccagcaa cttatctgtg tctgtccgat tgtctagtgt ctatgactga ttttatgcgc	720
ctgctcggt actagttagc taactagctc tgtatctggc ggaccctgg tggaaactgac	780
gagttcgga caccgcccgc caacctggg agacgtccca gggacttcgg gggccgtttt	840
tgtggcccga cctgagtcct aaaatcccga tcgttttagga ctctttgggt caccctctt	900
agaggaggga tatgtggttc tggtaggaga cgagaaccta aaacagttcc cgcctccgtc	960
tgaatttttg ctttcggttt gggaccgaag ccgcgccgcg cgtcttgtct gctgcagcat	1020
cgttctgtgt tgctctgtc tgactgtgtt tctgtatttg tctgaaaata tgggcccggg	1080
ctagcctgtt accactccct taagtttgac cttaggtcac tggaaagatg tcgagcggat	1140
cgctcacaac cagtcggtag atgtcaagaa gagacgttgg gttaccttct gctctgcaga	1200
atggccaacc tttaacgtcg gatggccgcg agacggcacc tttaccgag acctcatcac	1260
ccaggttaag atcaaggtct ttacacctgg ccgcgatgga caccagacc aggtggggta	1320
catcgtgacc tgggaagcct tggcttttga cccctctcc tgggtcaagc cttttgtaca	1380
ccctaagcct ccgctctctc ttctccatc cggccgtct ctcctcttg aacctctcg	1440

ttcgaccccg cctcgatcct ccccttatcc agccctcact ccttctctag gcgcccccat	1500
atggccatat gagatcttat atggggcacc cccgcccctt gtaaacttcc ctgacctga	1560
catgacaaga gttactaaca gcccctctct ccaagctcac ttacaggctc tetacttagt	1620
ccagcacgaa gtctggagac ctctggcggc agcctacca gaacaactgg accgaccggt	1680
ggtacctcac ccttaccgag tcggcgacac agtgtgggtc cgccgacacc agactaagaa	1740
cctagaacct cgctggaaag gaccttacac agtctgctg accaccccca ccgceetcaa	1800
agtagacggc atcgagctt ggatacacgc cggccacgtg aaggctgccg accccggggg	1860
tggaccatcc tctagactgc catgctcgag atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg	1920
gagctggcgg aggaggcgct cccaagaag acaggggggc ccaggggctc caggcggtgc	1980
ttgttctca gcctcttctc ctctctgac gtggcaggcg ccaccacgt cttctgctg	2040
ctgcactttg gagtgatcgg ccccagagg gaagagtcc ccagggacct ctctctaate	2100
agccctctgg ccaggcaag atcatcttct cgaacccga gtgacaaggt agcccatgtt	2160
gtagcaaacc ctcaagctga ggggcagctc cagtggctga accgccgggc caatgccctc	2220
ctggccaatg gcgtggagct gagagataac cagctggtgg tgccatcaga gggcctgtac	2280
ctcatctact ccaggtcct cttaagggc caaggctgcc cctccacca tgtgtcctc	2340
accacacca tcagccgcat cgccgtctcc taccagacca aggtcaacct cctctctgcc	2400
atcaagagcc cctgccagag ggagaccca gagggggctg aggccaagcc ctggtatgag	2460
cccatctatc tgggaggggt ctccagctg gagaagggtg accgactcag cgctgagatc	2520
aatcgcccc actatctcga ctttccgag tctgggcagg tctactttgg gatcattgcc	2580
ctgtcgcgag ccgagggcag gggaagtctt ctaacatcg gggacgtgga ggaaaatccc	2640
gggccccatg agtttgggt gagctggctt tttcttgtg ctattttaaa aggtgtccag	2700
tgctctagag acatccagat gacacagact acatcctccc tgtctgcctc tctgggagac	2760
agagtcacca tcagttgcag ggcaagtcag gacattagta aatattttaaa ttggtatcag	2820
cagaaaccag atggaactgt taaactcctg atctaccata catcaagatt aactcagga	2880
gtcccatcaa ggttcagtgg cagtgggtct ggaacagatt attctctcac cattagcaac	2940
ctggagcaag aagatattgc cacttacttt tgccaacagg gtaatacgt tccgtacacg	3000
ttcggagggg ggaccaagct ggagctgaaa cgtggtggtg gtggttctgg tgggtggtgt	3060
tctggcggcg gcggtccgg tgggtgtgga tccgaggtgc agctgcagca gtctggacct	3120
ggcctggtgg cgcctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta	3180

cccgactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa agggctctgga gtggctggga 3240

gtaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaaccag actgaccatc 3300

atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagtctgca aactgatgac 3360

acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac 3420

tggggccaag ggaccacggt cactgtctcc tcgtacgtca ctgtctcttc acaggatccc 3480

gccgagccca aatctctga caaaactcac acatgccac cgtgccacg acctgaactc 3540

ctggggggac cgtcagctctt cctcttcccc ccaaaacca aggacaccct catgatctcc 3600

cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 3660

ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 3720

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg 3780

aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 3840

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc 3900

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg ctcttatccc 3960

agcgacatcg ccgtggagt ggagagcaat gggcaaccgg agaacaacta caagaccacg 4020

cctcccgctg tggactccga cggctccttc ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 4080

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgagc tctgcacaac 4140

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaaa aagatccca attttgggtg 4200

ctggtggtg ttggtggagt cctggtctgc tatagcttgc tagtaacagt ggcctttatt 4260

atcttctggg tgaggagtaa gaggagcagg ctctgcaca gtgactacat gaacatgact 4320

ccccgccgc ccgggccac ccgcaagcat taccagcct atgccccacc acgcgacttc 4380

gcagcctatc gctcacgct gaagttcagc aggagcgcag acgccccgc gtaccagcag 4440

ggccagaacc agctctataa cgagctcaat ctaggacgaa gagaggagta cgatgttttg 4500

gacaaaagac gtggccggga ccctgagatg gggggaaagc cgagaaggaa gaacctcag 4560

gaaggcctgt acaatgaact gcagaaagat aagatggcgg aggcctacag tgagattggg 4620

atgaaaggcg agcgccggag gggcaagggg cacgatggcc tttaccaggg tctcagtaca 4680

gccaccaagg acacctacga cgcccttcac atgcaggccc tgccccctcg cggaccgcag 4740

tgtactaatt atgtctctt gaaattggct ggagatgttg agagcaatcc cgggccccatg 4800

cgcattagca agccccact gcggagcatc agcatccagt gctacctgtg cctgctgctg 4860

aacagccact tctgaccga ggccggcatc cacgtgttca tcctgggctg cttcagcgcc 4920

ggactgcccc agaccgaggc caactgggtg aacgtgatca gcgacctgaa gaagatcgag 4980
 gacctgatcc agagcatgca catcgacgcc accctgtaca ccgagagcga cgtgcacccc 5040
 agctgcaagg tgaccgcat gaagtgttt ctgctggaac tgcaggtgat cagcctggaa 5100
 agcggcgacg ccagcatcca cgacaccgtg gagaacctga tcatcctggc caacaacagc 5160
 ctgagcagca acggcaacgt gaccgagagc ggctgcaaag agtgcgagga actggaagag 5220
 aagaacatca aagagtttct gcagagcttc gtgcacatcg tgcagatgtt catcaacacc 5280
 agctgacaat tgcgcgtcat catcgatccg gattagtcca atttgttaaa gacaggatat 5340

 cagtgttcca ggctctagtt ttgactcaac aatatcacca gctgaagcct atagagtacg 5400
 agccatagat aaaataaaag attttattta gtctccagaa aaagggggga atgaaagacc 5460
 ccacctgtag gtttggcaag ctagttaag taacgccatt ttgcaaggca tggaaaaata 5520
 cataactgag aatagagaag ttcagatcaa ggtcaggaac agatggaaca gctgaatatg 5580
 ggccaaacag gatatctgtg gtaagcagtt cctgccccgg ctgaggcca agaacagatg 5640
 gaacagctga atatgggcca aacaggatat ctgttgtaag cagtctctgc cccggctcag 5700
 ggccaagaac agatggtccc cagatgcggt ccagccctca gcagtttcta gagaaccatc 5760

 agatgtttcc agggtgcccc aaggacctga aatgacctg tgccttattt gaactaacca 5820
 atcagttcgc ttctcgcttc gtttcgcgcg cttctgtcc ccgagctcaa taaaagagcc 5880
 cacaacccct cacteggggc gccagtcctc cgattgactg agtcgcccgg gtaccctgtt 5940
 atccaataaa cctcttgca gttgcatccg acttgtggtc tcgctgttcc ttgggagggt 6000
 ctctctgag tgattgacta cccgtcagcg ggggtcttcc acacatgcag catgtatcaa 6060
 aattaatttg gtttttttc ttaagtattt acattaaatg gccatagtag ttaaagttac 6120
 attggcttcc ttgaaataaa catggagtat tcagaatgtg tcataaatat ttctaatttt 6180

 aagatagtat ctccattggc ttctactttt ttcttttatt tttttttgtc ctctgtcttc 6240
 catttgttgt tgttgttgtt tgttgtttg ttgtgtggtt ggttgggtta tttttttta 6300
 aagatcctac actatagtcc aagctagact attagctact ctgtaacca gggtagacct 6360
 gaagtcatgg gtagcctgct gttttagcct tcccacatct aagattacag gtatgagcta 6420
 tcatttttgg tatattgatt gattgattga ttgatgtgtg tgtgtgtgat tgtgttgtg 6480
 tgtgtgactg tgaatatgtg tgtatgggtg tgtgtgaatg tgtgtatgta tgtgtgtgtg 6540
 tgagtgtgtg tgtgtgtgtg tgcatgtgtg tgtgtgtgac tgtgtctatg tgtatgactg 6600

 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtga aaaaatattc 6660
 tatggtagtg agagccaacg ctccggctca ggtgtcaggt tggtttttga gacagagtct 6720
 ttcacttagc ttggaattca ctggccgtcg ttttacaacg tctgactgg gaaaaccctg 6780

gcgttaccca acitaaatcgc cttgcagcac atcccccttt cgccagctgg cgtaaatagcg	6840
aagaggcccc caccgatcgc ctttcccaac agttgcgcag cctgaatggc gaatggcgcc	6900
tgatgcggta ttttctcctt acgcatctgt gcggtatttc acaccgcata tgggtgcactc	6960
tcagtacaat ctgctctgat gccgcatagt taagccagcc ccgacacccg ccaacacccg	7020
ctgacgcgcc ctgacgggct tgtctgctcc cgccatccgc ttacagacaa gctgtgaccg	7080
tctccgggag ctgcatgtgt cagaggtttt caccgtcatc accgaaacgc gcgagacgaa	7140
agggcctcgt gatacgccta tttttatagg ttaatgtcat gataataatg gtttcttaga	7200
cgtcaggtag cacttttcgg ggaaatgtgc gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa	7260
tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac aataaccctg ataatgctt caataatatt	7320
gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt tccgtgtcgc ccttattccc tttttgcgg	7380
cattttgcct tctgttttt gctcaccag aaacgctggg gaaagtaaaa gatgctgaag	7440
atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg aactggatct caacagcggg aagatccttg	7500
agagttttcg ccccgaagaa cgttttccaa tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg	7560
gcgcggtatt atcccgatatt gacgccgggc aagagcaact cggtcgccgc atacactatt	7620
ctcagaatga ctgggttag tactcaccag tcacagaaaa gcactttacg gatggcatga	7680
cagtaagaga attatgcagt gctgccataa ccatgagtga taacactgcg gccaaattac	7740
ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc	7800
atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg agctgaatga agccatacca aacgacgagc	7860
gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa caacgttgcg caaactatta actggcgaac	7920
tacttactct agcttcccgg caacaattaa tagactggat ggaggcggat aaagttgcag	7980
gaccacttct gcgctcgccc cttccggctg gctggtttat tgctgataaa tctggagccg	8040
gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag cactggggcc agatggtaag ccttcccgtg	8100
tcgtagttaa ctacacgacg gggagtcagg caactatgga tgaacgaaat agacagatcg	8160
ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata	8220
tactttagat tgatttaaaa cttcatTTTT aatttaaaag gatctaggtag aagatccttt	8280
ttgataatct catgacaaaa atcccttaac gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc	8340
ccgtagaaaa gatcaaagga ttttcttag atcctttttt tctgcgcgta atctgtctgt	8400
tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa	8460
ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca gagcgcagat accaaatact gttcttctag	8520
tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga actctgtagc accgcctaca tacctcgctc	8580
tgctaactct gttaccagtg gctgtgtcca gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg	8640

actcaagacg atagttaccg gataaggcgc agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca 8700

cacagcccag ctgggagcga acgacctaca ccgaactgag atacctacag cgtgagctat 8760

gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg 8820

tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc 8880

ctgtcggggtt tcgccacctc tgaattgagc gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc 8940

ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg cctttttacg gttcctggcc ttttgcctggc 9000

cttttgcctc catgttcttt cctgcgttat ccctgattc tgtggataac cgtattaccg 9060

cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca gccgaacgac cgagcgcagc gagtcatgta 9120

gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc 9180

attaatgcag ctggcacgac aggtttcccg actggaaagc gggcagtgag cgcaacgcaa 9240

ttaatgtgag ttagctcact cattagggcag cccaggtttt acaatttatg cttccggctc 9300

glatgttgtg tggaattgtg agcggataac aatttcacac aggaacagc tatgacctg 9360

attacgcaa gctttgctct taggagtttc ctaatacatc ccaaactcaa atatataaag 9420

catttgactt gttctatgcc ctagggggagc gggggaagct aagccagctt tttttaacat 9480

ttaaaatggt aattccattt taaatgcaca gatgttttta tttcataagg gtttcaatgt 9540

gcatgaatgc tgcaatatc ctgttaccag agctagtata aataaaaata gataaacgtg 9600

gaaattactt agagtttctg tcattaacgt ttcttctctc agttgacaac ataaatgcgc 9660

tgctgagcaa gccagtttgc atctgtcagg atcaatttcc cattatgcca gtcataataa 9720

ttactagtca attagttgat ttttattttt gacatatata tgtg 9764

<210> 16

<211> 9452

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

aatgaaagac cccacctgta gggtttggcaa gctagcttaa gtaacgcat tttgcaaggc 60

atggaaaaat acataactga gaatagaaaa gttcagatca aggtcaggaa cagatggaac 120

agctgaatat gggccaaaca ggatatctgt ggtaagcagt tctgccccg gtcaggggcc 180

aagaacagat ggaacagctg aatatgggcc aaacaggata tctgtggtta gcagttcctg 240

ccccggtcca gggccaagaa cagatggtcc ccagatgcgg tccagccctc agcagtttct 300
 agagaacat cagatgtttc cagggtgccc caaggacctg aaatgacct gtgccttatt 360
 tgaactaacc aatcagttcg cttctcgctt ctgttcgcgc gcttatgctc cccgagctca 420
 ataaaagagc ccacaacccc tcactcgggg cgccagtcct ccgattgact gagtgcgccg 480

 ggtaccctg tatccaataa accctcttgc agttgcatcc gacttgtggt ctgctgttc 540
 ctggggaggg tctcctctga gtgattgact acccgtcagc gggggtcttt catittggggg 600
 ctgctccggg atcgggagac ccctgcccag ggaccaccga cccaccaccg ggaggtaagc 660
 tggccagcaa cttatctgtg tctgtccgat tgtctagtgt ctatgactga ttttatgcgc 720
 ctgctcggg actagttagc taactagctc tgtatctggc ggaccctggg tggaaactgac 780
 gagtccgaa caccggccg caacctggg agacgtcca gggacttcgg gggccgtttt 840
 tgtggccga cctgagtcct aaaatcccga tcgttttagga ctctttggtg caccctctt 900

 agaggaggga tatgtggttc tggtaggaga cgagaacctc aaacagttcc cgcctccgtc 960
 tgaattttt ctttcggtt gggaccgaag ccgcgccgcg cgtcttgtct gctgcagcat 1020
 cgttctgtgt tctctctgtc tgactgtgtt tctgtatttg tctgaaaata tgggcccggg 1080
 ctacgtgtt accactcct taagttagc cttaggtcac tggaaagatg tcgagcggat 1140
 cgctcacaac cagtcggtag atgtcaagaa gagacgttgg gttaccttct gctctgcaga 1200
 atggccaacc tttaacgtcg gatggccgcg agacggcacc tttaacgag acctcatc 1260
 ccaggttaag atcaaggtct tttcacctgg ccgcatgga caccagacc aggtggggta 1320

 catcgtgacc tgggaagcct tggcttttga cccctctcc tgggtcaagc cctttgtaca 1380
 ccctaagcct ccgctctctc ttcctccatc cgcctctct ctcctcttg aacctctcg 1440
 ttcgacccc cctgatctt cctttatcc agcctcact ccttctctag gcgccccat 1500
 atggccatat gagatcttat atggggcacc ccgccccct gtaaacctcc ctgacctga 1560
 catgacaaga gttactaaca gccctctct ccaagctcac ttacaggctc tctactagt 1620
 ccagcacgaa gtctggagac ctctggcggc agcctacca gaacaactgg accgaccgt 1680
 ggtacctcac cttaccgag tcggcgacac agtgtgggtc cgccgacacc agactaagaa 1740

 cctagaacct cgctggaaag gaccttacac agtctgtctg accacccca ccgacctcaa 1800
 agtagacggc atcgagctt ggatacacgc cgcctcgtg aaggtgcgcg acccggggg 1860
 tggaccatcc tctagactgc catgctcgag atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg 1920
 gagctggccg aggaggcgt cccaagaag acaggggggc cccagggtc caggcgggtc 1980
 ttgttctca gctcttctc cttctgac gtggcaggcg ccaccacgt cttctgctg 2040
 ctgcactttg gattgatcgg ccccagagg gaagagttcc ccagggacct ctcttaate 2100

agccctctgg cccaggcaag atcatcttct cgaaccccg gtagacaaggt agcccatgtt 2160

gtagcaaacc ctcaagctga ggggcagctc cagtggctga accgccgggc caatgccctc 2220

ctggccaatg gcgtggagct gagagataac cagctggtgg tgccatcaga gggcctgtac 2280

ctcatctact ccaggtcct cttcaagggc caaggctgcc cctccacca tgtgtcctc 2340

accacacca tcagccgcat cgccgtctcc taccagacca aggtcaacct cctctctgcc 2400

atcaagagcc cctgccagag ggagacccca gagggggctg aggccaagcc ctggtatgag 2460

cccatctatc tgggaggggt cttccagctg gagaagggtg accgactcag cgctgagatc 2520

aatcgccccg actatctcga ctttgccgag tctgggcagg tctactttgg gatcattgcc 2580

ctgtcgcgag ccgagggcag gggaagtctt ctaacatgcg gggacgtgga ggaaaatccc 2640

gggcccattg agtttgggt gagctggctt tttcttgtgg ctattttaaa aggtgtccag 2700

tgctctagag acatccagat gacacagact acatcctccc tgtctgcctc tctgggagac 2760

agagtcacca tcagttgcag ggcaagtcag gacattagta aatatttaaa ttggtatcag 2820

cagaaaccag atggaactgt taaactcctg atctaccata catcaagatt acactcagga 2880

gtcccatcaa gggtcagtg cagtgggtct ggaacagatt attctctcac cattagcaac 2940

ctggagcaag aagatatggc cacttacttt tgccaacagg gtaatacgct tccgtacacg 3000

ttcggagggg ggaccaagct ggagctgaaa cgtggtgggt gtggttctgg tgggtggtgt 3060

tctggcggcg gcggctccgg tgggtggtgga tccgaggtgc agctgcagca gtctggacct 3120

ggcctggtgg cgccctcaca gagcctgtcc gtcacatgca ctgtctcagg ggtctcatta 3180

cccactatg gtgtaagctg gattcgccag cctccacgaa aggtcttgga gtggctggga 3240

glaatatggg gtagtgaac cacatactat aattcagctc tcaaatccag actgaccatc 3300

atcaaggaca actccaagag ccaagttttc ttaaaaatga acagctgca aactgatgac 3360

acagccattt actactgtgc caaacattat tactacggtg gtagctatgc tatggactac 3420

tggggccaag ggaccacggt cactgtctcc tcgtacgtca ctgtctcttc acaggatccc 3480

gccgagccca aatctctga caaaactcac acatgccac cgtgcccagc acctgaactc 3540

ctggggggac cgtcagctct cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 3600

cggaccctg aggtcacatg cgtggtgggt gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 3660

ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaagcc gcgggaggag 3720

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcccgacca ggactggctg 3780

aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 3840

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc	3900
cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc	3960
agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcaaccgg agaacaacta caagaccacg	4020
cctcccgctg tggactccga cggctccttc ttctcttaca gcaagctcac cgtggacaag	4080
agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac	4140
cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaaa aagatcccaa attttggggc	4200
gtgctggccg gaatcgtgat gggcgacctg gtgctgacag tgctgatcgc cctggctgtg	4260
tacttcctgg gcagactggt gcccagagga agaggcgctg ccgaagccgc caccggaag	4320
cagagaatca ccgagacaga gagccctat caggaaactgc agggccagcg gagcgacgtg	4380
tacagcgacc tgaataccca gcggccctac taaaaacgcg gaccgcagtg tactaattat	4440
gctctcttga aattggctgg agatgttgag agcaatcccg ggcccatgcg cattagcaag	4500
ccccacctgc ggagcatcag catccagtgc tacctgtgcc tgctgctgaa cagccacttc	4560
ctgaccgagg ccggcatcca cgtgttcatc ctgggctgct tcagcgccgg actgccaag	4620
accgaggcca actgggtgaa cgtgatcagc gacctgaaga agatcgagga cctgatccag	4680
agcatgcaca tcgacgccac cctgtacacc gagagcgacg tgcacccag ctgcaaggtg	4740
accgccatga agtgctttct gctggaactg caggtgatca gcctggaaag cggcgacgcc	4800
agcatccagc acaccgtgga gaacctgatc atcctggcca acaacagcct gagcagcaac	4860
ggcaactgta ccgagagcgg ctgcaaagag tgcgaggaac tggaagagaa gaacatcaa	4920
gagtttctgc agagcttctg gcacatctg cagatgttca tcaacaccag ctgacaattg	4980
cgctcatca tcgatccga ttagtccaat ttgttaaaga caggatatca gtgtccagg	5040
ctctagtttt gactcaaaa taccaccagc tgaagcctat agagtacgag ccatagataa	5100
aataaaagat tttatttagt ctccagaaaa aggggggaat gaaagacccc acctgtaggt	5160
ttggcaagct agcttaagta acgccatttt gcaaggcatg gaaaaataca taactgagaa	5220
tagagaagtt cagatcaagg tcaggaacag atggaacagc tgaatatggg ccaaacagga	5280
tatctgtggt aagcagttcc tgccccgct cagggccaaag aacagatgga acagctgaat	5340
atgggccaaa caggatatct gtggttaagca gttctgccc cggctcaggg ccaagaacag	5400
atggtcccca gatgcggtcc agccctcagc agtttctaga gaaccatcag atgtttccag	5460
ggtgcccaa ggacctgaaa tgacctgtg ccttatttga actaaccaat cagttcgctt	5520
ctcgcttctg ttgcgcgct tctgtcccc gagctcaata aaagagcca caaccctca	5580
ctcggggcgc cagtcctccg attgactgag tcgcccgggt acccgtgtat ccaataaacc	5640
ctcttgacgt tgcatccgac ttgtggtctc gctgttctt gggagggtct cctctgagt	5700

attgactacc cgicagcggg ggtctttcac acatgcagca tgtatcaaaa ttaatttgg 5760
 tttttttctt aagtatttac attaaatggc catagtactt aaagttacat tggcttcctt 5820
 gaaataaaca tggagtattc agaatgtgtc ataaatattt ctaattttta gatagtatct 5880
 ccattggctt tciacttttt cttttatttt tttttgtcct ctgtcttcca ttgttgttg 5940

ttgttgtttg ttgttttgtt tgttggttgg ttggttaatt tttttttaa gatcctacac 6000
 tatagttaa gctagactat tagctactct gtaaccagg gtgacctga agtcatgggt 6060
 agcctgctgt tttagccttc ccacatctaa gattacagg atgagctatc atttttgta 6120
 tattgattga ttgattgatt gatgtgtgtg tgtgtgattg tgtttgtgtg tgtgactgtg 6180
 aaaatgtgtg tatgggtgtg tgtgaatgtg tgtatgtatg tgtgtgtgtg agtgtgtgtg 6240
 tgtgtgtgtg catgtgtgtg tgtgtgactg tgtctatgtg tatgactgtg tgtgtgtgtg 6300
 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgaaa aaatattcta tggtagtgag 6360

agccaacgct ccggctcagg tgtcagggtg gtttttgaga cagagtcttt cacttagctt 6420
 ggaattcact ggccgtcgtt ttacaacgtc gtgactggga aaaccctggc gttaccaac 6480
 ttaatcgct tgcagcacat ccccttttcg ccagctggcg taatagcgaa gaggcccgca 6540
 ccgatcgccc ttccaacag ttgcgcagcc tgaatggcg atggcgctg atcggtatt 6600
 ttctccttac gcatctgtgc ggtatttcac accgcatatg gtgcactctc agtacaatct 6660
 gctctgatgc cgcatagtta agccagcccc gacacccgcc aacacccgct gacgcgccct 6720
 gacgggcttg tctgctcccg gcatccgctt acagacaagc tgtgaccgtc tccgggagct 6780

gcatgtgtca gaggttttca ccgtcatcac cgaaacgcgc gagacgaaag ggcctcgtga 6840
 tacgcctatt tttataggtt aatgtcatga taataatgg tttctagacg tcaggaggca 6900
 cttttcgggg aaatgtgcgc ggaaccctta ttgttttatt tttctaaata cattcaaata 6960
 tgtatccgct catgagacaa taacctgat aaatgcttca ataatttga aaaaggaaga 7020
 gtagtagtat tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttcggca ttttgccttc 7080
 ctgtttttgc tcaccagaa acgctgggtga aagtaaaaga tgtgaagat cagttgggtg 7140
 cacgagtggt ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc 7200

ccgaagaacg ttttccaatg atgagcactt ttaaagtctt gctatgtggc gcggtattat 7260
 cccgtattga cgccgggcaa gagcaactcg gtcgccgat acactattct cagaatgact 7320
 tggttgagta ctaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat 7380
 tatgcagtgc tgccataacc atgagtata aactgcggc caacttactt ctgacaacga 7440
 tcggaggacc gaaggagcta accgtttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc 7500
 ttgatcgttg ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccacga 7560

tgctgtagc aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta cttactctag	7620
cttcccgga acaattaata gactggatgg aggcggataa agttgcagga ccacttctgc	7680
gctcgccct tccggtggc tggtttattg ctgataaatc tggagccggt gagcgtgggt	7740
ctcgcggtat cattgcagca ctggggccag atggttaagcc ctcccgtatc gtagttatct	7800
acacgacggg gactcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg	7860
cctcactgat taagcattgg taactgtcag accaagttaa ctcatatata ctttagattg	7920
atttaaaact tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca	7980
tgaccaaact cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga	8040
tcaaaggatc ttcttgagat cttttttttc tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaacaaa	8100
aaccaccgct accagcgggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttcga	8160
aggtaactgg cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt tcttctagt tagccgtagt	8220
taggccacca cttaagaac tctgtagcac cgctacata cctcgctctg ctaatcctgt	8280
taccagtggc tgcgtccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat	8340
agttaccgga taaggcgcag cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct	8400
tggagcgaac gacctacac gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca	8460
cgcttcccga agggagaaaag gcggacaggt atccggttaag cggcagggtc ggaacaggag	8520
agcgcacgag ggagcttcca gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc	8580
gccacctctg acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc aggggggcgg agcctatgga	8640
aaaacgccag caacgcggcc tttttacggt tcttggcctt ttgttggcct ttgtctcaca	8700
tgttctttcc tgcgttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgcc tttagtgtag	8760
ctgataccgc tcgccgcagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg	8820
aagagcgccc aatacgcaaa ccgctctcc ccgcgcttg gccgattcat taatgcagct	8880
ggcacgacag gtttcccgac tggaaagcgg gcagtgagcg caacgcaatt aatgtgagtt	8940
agctcactca ttaggcaccc caggctttac actttatgct tccggctcgt atgttgtgtg	9000
gaattgtgag cggataacaa tttcacacag gaaacagcta tgacatgat tacgccaagc	9060
tttgctctta ggagtttctt aatacatccc aaactcaaat atataaagca tttagcttgt	9120
tctatgccct agggggcggg gggaagctaa gccagctttt tttaacattt aaaatgttaa	9180
ttccatttta aatgcacaga tgtttttatt tcataagggt ttcaatgtgc atgaatgctg	9240
caatattcct gttaccaaag ctagtataaa taaaaataga taaacgtgga aattacttag	9300

agtttctgtc attaacgttt ccttcctcag ttgacaacat aaatgcgctg ctgagcaagc 9360
cagtttgcac ctgtcaggat caatttccca ttatgccagt catattaatt actagtcaat 9420
tagttgattt ttatttttga catatacatg tg 9452

<210> 17

<211> 33

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

Leu

<210> 18

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Ser Thr Glu Ser

1

<210> 19

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe Cys Leu Leu

1 5 10 15

His Phe Gly Val Ile

20

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro

1 5 10 15

Leu Ala Gln Ala

20

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Val Arg Ser Ser Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val

1 5 10

<210> 22

<211> 662

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

atgagcactg aaatgcatcc cggaaggggg tcctggcacg aggaggcgct cccaagaag 60

acaggggggc cccagggtc caggcggtgc ttgttctca gcctttctc cttctgac 120

gtggcaggcg ccaccacgct cttctgcctg ctgcactttg gagtgatcgg cccccagagg 180

gaagagtcc ccagggacct ctctctaata agccctctgg cccaggcagc ccatgttgta 240

gcaaaccctc aagctgaggg gcagctccag tggtgaacc gccgggcaa tgccctcctg 300

gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtggtgc catcagaggg cctgtacctc 360

atctactccc aggtcctctt caagggccaa ggctgccct ccacccatgt gctcctcacc 420

cacaccatca gccgcacgc cgtctcctac cagaccaagg tcaacctct cctgccaac 480

aagagccct gccagagga gacccagag ggggctgagg ccaagccctg gtatgagccc 540

atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcagcg tgagatcaat 600

cggcccgact atctcgactt tgccgagtct gggcaggtct actttgggat cattgccctg 660

cg 662

<210> 23

<211> 233

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Met Ser Thr Glu Met His Pro Gly Arg Gly Ser Trp His Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Val Arg Ser Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu

100 105 110

Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser

115 120 125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu

180 185 190

Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu
195 200 205

Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
210 215 220

Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
225 230

<210> 24

<211> 663

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

atgagcactg aaagcaagat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag 60
acaggggggc ccaggggctc caggcggtgc ttgttctca gcctttctc cttctgac 120

gtggcaggcg ccaccacgtc cttctgcctg ctgcactttg gagtgatcgg ccccagagg 180
gaagagttcc ccagggacct ctctctaac agccctctgg ccagggcagc ccatgttgta 240
gcaaaccctc aagctgaggg gcagctccag tggtgaacc gccgggcca tgccctcctg 300
gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtggtgc catcagaggg cctgtacctc 360
atctactccc aggtcctctt caagggccaa ggctgccct ccacccatgt gtcctcacc 420
cacaccatca gccgcacgc cgtctccac cagaccaagg tcaacctcct ctctgccatc 480
aagagcccct gccagaggga gacccagag ggggctgagg ccaagccctg gtatgagccc 540

atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcagcgc tgagatcaat 600
cggcccgact atctcgactt tgccgagtct gggcaggtct actttgggat cattgccctg 660
tcg 663

<210> 25

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 25

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

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Ala His Val Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Arg Ile Ala Val Ser His Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile

145 150 155 160

Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro

165 170 175

Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly

180 185 190

Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala

195 200 205

Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

210 215 220

<210> 26

<211> 663

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag	60
acaggggggc cccagggtc caggcggtgc ttgttctca gcctcttctc ctctctgac	120
gtggcaggcg ccaccacgt cttcttctg ctgcacttg gagtgatcgg ccccagagg	180
gaagagtcc ccagggacct ctctctaac agccctctgg cccaggcagc ccatgttgta	240
gcaaaccctc aagctgaggg gcagctccag tggctgaacc gccgggcca tgccctcctg	300
gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtggtgc catcagagg cctgtacctc	360
atctactccc aggtctctt caagggcca ggctgccct ccacccatgt gctctcacc	420
cacaccatca gccgcatcg cgtctctac cagaccaagg tcaacctct ctctgccatc	480
aagagccct gccagaggga gacccagag ggggtgagg ccaagccctg gtatgagccc	540
atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcagcg tgagatcaat	600
cggcccgaact atctcgactt tgccgagtct gggcaggtct actttgggat cattgcctg	660
tcg	663

<210> 27

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

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

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

 Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val
 100 105 110
 Val Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys
 115 120 125
 Gly Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser
 130 135 140
 Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Phe Ala Ile
 145 150 155 160

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

<210> 28

<211

> 663

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag

60

acaggggggc cccagggctc caggcgggtgc ttgttctca gcctcttctc ctctctgac 120
 gtggcaggcg ccaccacgct cttctgcctg ctgcactttg gactgacgagg cccccagagg 180
 gaagagtacc ccagggacct ctctctaacc agccctctgg cccaggcagc ccatgttgta 240
 gcaaaccctc aagctgaggg gcagctccag tggctgaacc gccgggcca tgcctctctg 300

 gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtgggtgc catcagaggg cctgtacctc 360
 atctactccc aggtctcttt caagggccaa ggctgcccct ccacccatgt gctctcacc 420
 cacaccatca gccgcatcgc cgtctctac cagaccaagg tcaacctct ctctgccatc 480
 aagagcccct gccagaggga gacccagag ggggctgagg ccaagccctg gtatgagccc 540
 atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcatcgc tgagatcaat 600
 cggcccgaact atctcgactt tgccgagtat gggcaggtct actttgggat cattgcctg 660
 tcg 663

<210> 29

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 29

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Ala His Val Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro

165 170 175

Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly

180 185 190

Asp Arg Leu Ile Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala

195 200 205

Glu Tyr Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

210 215 220

<210> 30

<211> 663

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct cccaagaag	60
acaggggggc cccagggtc caggcggtgc ttgttctca gcctttctc ctctctgac	120
gtggcaggcg ccaccacgt cttctgcctg ctgcacttg gagtgatcgg ccccagagg	180
gaagagtcc ccaggacct ctctctaac agccctctgg cccaggcagc ccatgttgta	240
gcaaaccctc aagctgagg gcagctccag tggctgaacc gccgggcca tgccctctg	300
gccaatggcg tggagctgag agataaccag ctggtggtgc catcagagg cctgtacct	360
atctactccc aggtctctt caagggcca ggtgcccct ccacccatgt gctctcacc	420
cacaccatca gccgcacgc cgtctctac cagaccaagg tcaacctct ctctgccatc	480

aagagccctt gccagaggga gacccagag ggggctgagg ccaagccctg gtatgagccc 540
atctatctgg gaggggtctt ccagctggag aagggtgacc gactcagcgc tgatatcaat 600
cggcccgact atctctactt tgccgagtct gggcaggtct actttgggat cattgccctg 660
tcg 663

<210> 31

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 31

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Ala His Val Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Lys Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro
 165 170 175
 Trp Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly
 180 185 190

Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Tyr Phe Ala
 195 200 205
 Glu Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
 210 215 220

<210> 32

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

atgagcactg aaagcatgat ccgggacgtg gagctggccg aggaggcgct ccccaagaag 60
 acaggggggc cccagggctc caggcgggtgc ttgttctca gcctcttctc cttcctgac 120

gtggcaggcg ccaccacgtc cttctgctg ctgcactttg gattgatcgg cccccagagg 180
 gaagagtcc ccaggacac ctctctaata agccctctgc aggcagccca tgttgtagca 240
 aacctcaag ctgaggggca gctccagtgg ctgaaccgcc gggccaatgc cctcctggcc 300
 aatggcgtgg agctgagaga taaccagctg gtggtgccat cagagggcct gtacctcatc 360
 tactcccagg tctcttcaa gggccaaggc tgccctcca cccatgtgct cctcacccac 420
 accatcagcc gcatcgccgt ctctaccag accaaggtea acctcctctc tgccatcaag 480
 agccctgcc agagggagac cccagagggg gctgaggcca agccctggtg tgagcccatc 540

tatctgggag gggctctcca gctggagaag ggtgaccgac tcagcgctga gatcaatcgg 600
 cccgactatc tctactttgc cgagctctgg caggtctact ttgggatcat tgccctgtcg 660

<210> 33

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala His Val Val Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val

100 105 110

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

115 120 125

Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp

165 170 175

Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp

180 185 190

Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Tyr Phe Ala Glu

195 200 205

Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

210 215

<210> 34

<211> 671

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

atgctcgagt cgagatgagc actgaaatgc atcccgaag ggggtcctgg cacgaggagg	60
cgctcccaa gaagacaggg gggccccagg gctccaggcg gtgcttggtc ctcagcctct	120
tctccttctt gatcgtggca ggcgccacca cgtcttcttt cctgtgcac ttggagtgta	180
tcggcccca gaggaagag ttccccaggg acctctctct aatcagccct ctggcagccc	240
atgtttagc aaacctcaa gctgaggggc agctccagtg gctgaaccgc gggccaatg	300
ccctcctggc caatggcgtg gagctgagag ataaccagct ggtggtgcca tcagagggcc	360
tgtacctcat ctactccag gtctcttca agggccaagg ctgccctcc acctatgtgc	420
tcctaccca caccatcagc cgcacgccg tctccacca gaccaagtc aacctctct	480
tcgcatcaa gagccctgc cagagggaga cccagaggg ggctgaggcc aagccctggt	540
atgagcccat ctatctggga ggggtcttcc agctggagaa gggtagccga ctcacgctg	600
agatcaatcg gcccgactat ctctactttg ccgagtatgg gcaggtctac ttgggatca	660
ttgcctgtc g	671

<210> 35

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Met	Ser	Thr	Glu	Met	His	Pro	Gly	Arg	Gly	Ser	Trp	His	Glu	Glu	Ala
1				5					10					15	
Leu	Pro	Lys	Lys	Thr	Gly	Gly	Pro	Gln	Gly	Ser	Arg	Arg	Cys	Leu	Phe
				20					25					30	
Leu	Ser	Leu	Phe	Ser	Phe	Leu	Ile	Val	Ala	Gly	Ala	Thr	Thr	Leu	Phe

35 40 45
 Phe Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro
 50 55 60
 Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala His Val Val Ala
 65 70 75 80
 Asn Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn
 85 90 95
 Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val
 100 105 110
 Pro Ser Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly
 115 120 125
 Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg
 130 135 140
 Ile Ala Val Ser His Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Phe Ala Ile Lys
 145 150 155 160
 Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp
 165 170 175
 Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp
 180 185 190
 Arg Leu Ile Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Tyr Phe Ala Glu
 195 200 205
 Tyr Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
 210 215
 <210> 36
 <211> 1131
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <400> 36

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

245					250					255						
Leu	Ser	Trp	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Ile	Leu	Lys	Gly	Val	Gln	Cys	Ser	
260					265					270						
Arg	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Thr	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Leu	
275					280					285						
Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Ser	Lys	
290					295					300						
Tyr	Leu	Asn	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Asp	Gly	Thr	Val	Lys	Leu	Leu	
305					310					315					320	
Ile	Tyr	His	Thr	Ser	Arg	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	
325					330					335						
Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Tyr	Ser	Leu	Thr	Ile	Ser	Asn	Leu	Glu	
340					345					350						
Gln	Glu	Asp	Ile	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	Asn	Thr	Leu	Pro	
355					360					365						
Tyr	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Leu	Lys	Arg	Gly	Gly	Gly	
370					375					380						
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	
385					390					395					400	
Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Ala	Pro	Ser	
405					410					415						
Gln	Ser	Leu	Ser	Val	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Val	Ser	Leu	Pro	Asp	
420					425					430						
Tyr	Gly	Val	Ser	Trp	Ile	Arg	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	
435					440					445						
Leu	Gly	Val	Ile	Trp	Gly	Ser	Glu	Thr	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Ser	Ala	Leu	
450					455					460						
Lys	Ser	Arg	Leu	Thr	Ile	Ile	Lys	Asp	Asn	Ser	Lys	Ser	Gln	Val	Phe	
465					470					475					480	
Leu	Lys	Met	Asn	Ser	Leu	Gln	Thr	Asp	Asp	Thr	Ala	Ile	Tyr	Tyr	Cys	
485					490					495						

Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly
500 505 510

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Tyr Val Thr Val Ser Ser Gln
515 520 525

Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
530 535 540

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
545 550 555 560

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
565 570 575

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
580 585 590

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
595 600 605

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
610 615 620

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
625 630 635 640

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
645 650 655

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
660 665 670

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
675 680 685

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
690 695 700

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
705 710 715 720

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
725 730 735

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

740	745	750
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe		
755	760	765
Trp Val Leu Val Val Val Gly Gly Val Leu Ala Cys Tyr Ser Leu Leu		
770	775	780
Val Thr Val Ala Phe Ile Ile Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg		
785	790	795
Leu Leu His Ser Asp Tyr Met Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro		
805	810	815
Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala		
820	825	830
Tyr Arg Ser Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr		
835	840	845
Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg		
850	855	860
Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met		
865	870	875
Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu		
885	890	895
Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys		
900	905	910
Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu		
915	920	925
Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu		
930	935	940
Pro Pro Arg Gly Pro Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala		
945	950	955
Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro Met Arg Ile Ser Lys Pro His		
965	970	975
Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser		
980	985	990

His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe

995 1000 1005

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

1010 1015 1020

Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile

1025 1030 1035

Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys

1040 1045 1050

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

1055 1060 1065

Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu

1070 1075 1080

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

1085 1090 1095

Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile

1100 1105 1110

Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile

1115 1120 1125

Asn Thr Ser

1130

<210> 37

<211> 1138

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 37

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
 35 40 45
 Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro
 50 55 60
 Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Arg Ser Ser Ser
 65 70 75 80
 Arg Thr Pro Ser Asp Lys Val Ala His Val Val Ala Asn Pro Gln Ala
 85 90 95
 Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu Leu Ala
 100 105 110
 Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser Glu Gly
 115 120 125
 Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly Cys Pro
 130 135 140
 Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser
 145 150 155 160
 Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro Cys Gln
 165 170 175
 Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu Pro Ile
 180 185 190
 Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala
 195 200 205
 Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly Gln Val
 210 215 220
 Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu Ser Arg Ala Glu Gly Arg Gly Ser Leu
 225 230 235 240
 Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Met Glu Phe Gly
 245 250 255
 Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly Val Gln Cys Ser
 260 265 270
 Arg Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu

275 280 285
 Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Lys
 290 295 300
 Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu

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

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

 435 440 445
 Leu Gly Val Ile Trp Gly Ser Glu Thr Thr Tyr Tyr Asn Ser Ala Leu
 450 455 460
 Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ile Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe
 465 470 475 480
 Leu Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 485 490 495
 Ala Lys His Tyr Tyr Tyr Gly Gly Ser Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly

 500 505 510
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Tyr Val Thr Val Ser Ser Gln
 515 520 525

Asp Pro Ala Glu Pro Lys Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 530 535 540
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 545 550 555 560
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 565 570 575
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 580 585 590
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 595 600 605
 Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 610 615 620
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 625 630 635 640
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 645 650 655
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 660 665 670
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 675 680 685
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 690 695 700
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 705 710 715 720
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 725 730 735
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 740 745 750
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Lys Asp Pro Lys Phe
 755 760 765
 Trp Gly Val Leu Ala Gly Ile Val Met Gly Asp Leu Val Leu Thr Val

770 775 780
 Leu Ile Ala Leu Ala Val Tyr Phe Leu Gly Arg Leu Val Pro Arg Gly
 785 790 795 800
 Arg Gly Ala Ala Glu Ala Ala Thr Arg Lys Gln Arg Ile Thr Glu Thr
 805 810 815
 Glu Ser Pro Tyr Gln Glu Leu Gln Gly Gln Arg Ser Asp Val Tyr Ser

 820 825 830
 Asp Leu Asn Thr Gln Arg Pro Tyr Tyr Lys Arg Val Lys Phe Ser Arg
 835 840 845
 Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn
 850 855 860
 Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg
 865 870 875 880
 Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys Pro Arg Arg Lys Asn Pro

 885 890 895
 Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala
 900 905 910
 Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His
 915 920 925
 Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp
 930 935 940
 Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg Gly Pro Gln Cys Thr Asn

 945 950 955 960
 Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
 965 970 975
 Met Arg Ile Ser Lys Pro His Leu Arg Ser Ile Ser Ile Gln Cys Tyr
 980 985 990
 Leu Cys Leu Leu Leu Asn Ser His Phe Leu Thr Glu Ala Gly Ile His
 995 1000 1005
 Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys Thr Glu

 1010 1015 1020

Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp
 1025 1030 1035
 Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser
 1040 1045 1050
 Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu
 1055 1060 1065
 Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile
 1070 1075 1080
 His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu
 1085 1090 1095
 Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu
 1100 1105 1110
 Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val
 1115 1120 1125
 His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 1130 1135

<210> 38

<211> 673

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

tcgagtcgag atgagcactg aaagcatgat cggggacgtg gagctggcgc aggaggcgct	60
ccccaagaag acaggggggc cccagggctc caggcgggtgc ttgttctca gcctcttctc	120
cttctgctgac gtggcaggcg ccaccacgct cttctgcctg ctgcactttg gagtgatcgg	180
ccccagagg gaagagtcc ccagggacct ctctctaate agccctctgc aggagccca	240
tgtttagca aaccctcaag ctgaggggca gctccagtgg ctgaaccgcc gggccaatgc	300
cctcctggcc aatggcgtgg agctgagaga taaccagctg gtggtgccat cagagggcct	360
gtacctcacc tactcccagg tcctcttcaa gggccaaggc tgcccctcca cccatgtgct	420
cctcaccac accatcagcc gcctgcctgt ctctaccag accaaggtca acctctctc	480

tgccatcaag agccctgcc agaggagac ccagagggg gctgaggcca agccctggta 540
 tgagcccatc tatctgggag gggctttcca gctggagaag ggtgaccgac tcagcgctga 600
 gatcaatcgg cccgactatc tcgactttgc cgagtctggg caggtctact ttgggatcat 660
 tgccctgtcg tcg 673

<210> 39

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Gln Ala Ala His Val Val Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val

100 105 110

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

115 120 125

Gln Gly Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Pro Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp
165 170 175

Tyr Glu Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp
180 185 190

Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu
195 200 205

Ser Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu
210 215

<210> 40

<211> 654

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

atgagcactg aaatgcatcc cggaaggggg tcttggcacg aggaggcgct cccaagaag 60
acaggggggc cccagggctc caggcggtgc ttgttctca gcctcttctc cttctgac 120
gtggcaggcg ccaccacgct cttcttctg ctgcactttg gactgacgg cccagagg 180
gaagagtcc ccaggacct ctctctaac agccctctgg cccatgttgt agcaaaccct 240
caagctgagg ggcagctcca gtggctgaac cgccgggcca atgcctcct ggccaatggc 300
gtggagctga gagataacca gctggtggtg ccatcagagg gcctgtacct catctactcc 360
caggtcctct tcaagggcca aggtcgcccc tccacccatg tgctctcac ccacaccatc 420

agccgcatcg ccgtctccca ccagaccaag gtcaacctcc tcttcgcat caagagcccc 480
tgccagagg agacccaga gggggctgag gccaagcct ggtatgagcc catctatctg 540
ggaggggtct tccagctgga gaagggtgac cgactcatcg ctgagatcaa tcggcccgac 600
tatctctact ttgccgagta tgggcaggtc tactttggga tcattgcct gtcg 654

<210> 41

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Met Ser Thr Glu Met His Pro Gly Arg Gly Ser Trp His Glu Glu Ala

1 5 10 15
Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30
Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Ile Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe

35 40 45
Phe Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60
Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala His Val Val Ala Asn Pro

65 70 75 80
Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu

85 90 95
Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser

100 105 110
Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly

115 120 125
Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala

130 135 140
Val Ser His Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Phe Ala Ile Lys Ser Pro

145 150 155 160
Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu

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

180 185 190
Ile Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Tyr Phe Ala Glu Tyr Gly

195 200 205
Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu Ser

210 215

<210> 42

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

tcgagaagat gatctgactg cctgggccag agg 33

<210> 43

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

tcgagaagat gatcttgctt gggccagagg 30

<210> 44

<211> 12

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

tgatcttgcc tg 12

<210> 45

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 45
tacaacatgg gctacaggct tgtcactcgg ggt 33
<210> 46
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 46
tacaacatgg gctaccttgt cactcgggggt 30
<210> 47
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 47

ggctaccttg tc 12
<210> 48
<211> 48
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 48
caggcagtc gatcatcttc tcgaaccccg agtgacaagc ctgtagcc 48
<210> 49
<211> 16
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

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

1 5 10 15

<210> 50

<211> 220

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown: TNF alpha sequence"

<400> 50

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala Ala His Val Val

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val

100 105 110

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

115 120 125

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

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

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

<210> 51

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

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

65 70 75 80
Ser Arg Thr Pro Ser Asp Lys Pro Val Ala His Val Val Ala Asn Pro
85 90 95
Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala Leu
100 105 110
Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro Ser
115 120 125

Glu Gly Leu Tyr Leu Ile Tyr Ser Gln Val Leu Phe Lys Gly Gln Gly

130 135 140
Cys Pro Ser Thr His Val Leu Leu Thr His Thr Ile Ser Arg Ile Ala
145 150 155 160
Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser Ala Ile Lys Ser Pro
165 170 175
Cys Gln Arg Glu Thr Pro Glu Gly Ala Glu Ala Lys Pro Trp Tyr Glu
180 185 190
Pro Ile Tyr Leu Gly Gly Val Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu

195 200 205
Ser Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Asp Phe Ala Glu Ser Gly
210 215 220
Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu

225 230
<210> 52
<211> 660
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"
<220><221> misc_feature
<222> (214)..(219)
<223> /note="This region may or may not be present"

<400> 52
atgagcactg aaatgcatcc cggaaggggg tctggcacg aggaggcgct cccaagaag 60
acaggggggc cccagggtc caggcgggtgc ttgttctca gcctttctc cttctgac 120
gtggcaggcg ccaccacgct cttcttctg ctgcactttg gagtgatcgg ccccgagg 180
gaagagttcc ccagggacct ctctctaac agccctctgg ccgcagcca tgtttagca 240
aacctcaag ctgaggggca gctccagtgg ctgaaccgcc gggccaatgc cctctggcc 300
aatggcgtgg agctgagaga taaccagctg gtggtgcat cagagggcct gtacctcatc 360

tactcccagg tcctcttcaa gggccaaggc tgccctcca cccatgtgct cctcacccac 420

accatcagcc gcatcgccgt ctcccaccag accaaggta acctcctctt cgccatcaag 480

agccctgcc agaggagac cccagagggg gctgaggcca agccctggta tgagcccatc 540

tatctgggag gggctcttca gctggagaag ggtgaccgac tcatcgctga gatcaatcgg 600

cccgactatc tctactttgc cgagtatggg caggtctact ttgggatcat tgccctgtcg 660

<210> 53

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> SITE

<222> (74)..(75)

<223

> /note="This region may or may not be present"

<400> 53

Met Ser Thr Glu Met His Pro Gly Arg Gly Ser Trp His Glu Glu Ala

1 5 10 15

Leu Pro Lys Lys Thr Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Arg Cys Leu Phe

20 25 30

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

35 40 45

Phe Leu Leu His Phe Gly Val Ile Gly Pro Gln Arg Glu Glu Phe Pro

50 55 60

Arg Asp Leu Ser Leu Ile Ser Pro Leu Ala Gln Ala His Val Val Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val

100 105 110

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

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

180 185 190
Arg Leu Ile Ala Glu Ile Asn Arg Pro Asp Tyr Leu Tyr Phe Ala Glu
195 200 205
Tyr Gly Gln Val Tyr Phe Gly Ile Ile Ala Leu Ser
210 215 220

<210> 54

<211> 56

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown:

monkey TNF alpha sequence"

<400> 54

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

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

<210> 55

<211> 56

<212> PRT

<213> Sus sp.

<400> 55

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

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

<210> 56

<211> 56

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 56

Met Ser Thr Glu Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Ala

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

<210> 57

<211> 56

<212> PRT

<213> Oryctolagus sp.

<400> 57

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

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

35 40 45
 Cys Leu Leu His Phe Arg Val Ile
 50 55
 <210> 58
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Capra sp.
 <400> 58
 Met Ser Thr Lys Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Val

1 5 10 15
 Leu Ser Lys Lys Ala Gly Gly Pro Gln Gly Ser Arg Ser Cys Trp Cys
 20 25 30
 Leu Ser Leu Phe Ser Phe Leu Leu Val Ala Gly Ala Thr Thr Leu Phe
 35 40 45
 Cys Leu Leu His Phe Gly Val Ile
 50 55
 <210> 59
 <211> 56
 <212> PRT
 <213> Ovis sp.
 <400> 59
 Met Ser Thr Lys Ser Met Ile Arg Asp Val Glu Leu Ala Glu Glu Val

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